Tome 64, nº 5 — Janvier 1957

Aus dem Zoologisch-vergleichend anatomischen Institut der Universität Zürich

Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Keimzellen und somatischen Zellen im Ovar von *Drosophila melanogaster*

von

Nelly BUCHER

Mit 34 Textabbildungen und 4 Tabellen.

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG *

Durch Zerstörung des Polplasmas von *Drosophila*-Eiern mit ultraviolettem Licht konnte GEIGY (1931) für *Drosophila* nachweisen, dass die Urkeimzellen mit den aus dem Polplasma hervorgehenden Polzellen identisch und somit die Keimzellen extragonadaler Herkunft sind. Die Gonaden von *Drosophila* sind damit Organe, deren Gewebselemente räumlich und zeitlich getrennt entstehen. Die Pol- oder Urkeimzellen werden frühembryonal, und zwar noch vor der Bildung des Blastoderms, am hintern Pol des Eies aus dem Eiplasma ausgesondert (HUETTNER 1923), während die Anlage des Gonadensomas erst nach der Gastrulation, etwa in der Mitte der Embryonalzeit, im Mesoderm gebildet wird. Die Polzellen, die als Repräsentanten der Keimbahn keinem der Somablätter angehören, gelangen während der Embryonalentwicklung

* Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. HADORN möchte ich für Unterstützung und Interesse, mit denen er meine Arbeit stets gefördert hat, herzlich danken. Herrn Prof. Dr. H. R. SCHINZ, in dessen Röntgeninstitut ich die Bestrahlungen durchführen konnte und Herrn Prof. Dr. A. LINDER, Genf, der mich bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse beriet, bin ich sehr zu Dank verpflichtet. Herrn Prof. Dr. H. GLOOR, Leiden, Frau PD. Dr. H. FRITZ-NIGGLI, Zürich, sowie Herrn Dr. J. GALLERA, Genf, danke ich für manche Anregung.

ins Entoderm und sind erst um die Mitte der Embryonalzeit in jenem Mesodermbereich zu finden, der die somatische Gonadenanlage liefert (Geigy 1931, Poulson 1937, Huettner 1940, Aboim 1945 u.a.).

In den Gonaden treffen sich demzufolge Keimbahn und Soma zu gemeinsamer Entwicklungsleistung. Es interessiert nun besonders, wie bei solch heterogener Zusammensetzung die harmonische Entwicklung des Organes gewährleistet wird. Zunächst konnten Geigy (1931) und Aboim (1945) zeigen, dass die Bildung des Gonadenkörpers nicht an die Existenz von Keimzellen gebunden ist. Der mesodermale Anteil der Gonade entwickelt sich — mit einer einzigen Einschränkung — auch ohne die Keimzellen typisch und in normaler Zeit. Margr. Vogt (1942) wies nach, dass die Entwicklung der Gonaden und vieler anderer Organe bei *Drosophila* unter der Kontrolle der Ringdrüse vor sich geht. Die Ringdrüse sorgt danach als zentrales Korrelationszentrum für die harmonische Entwicklung des Gesamtorganismus.

Die soeben erwähnte Einschränkung betrifft das Ovar. Im Gegensatz zum agametischen Hoden, dessen Zellelemente sich vollständig differenzieren, verläuft im Ovar die Entwicklung nur bis zum Zeitpunkt der Follikelbildung in der zweiten Hälfte der Puppenzeit normal. Die Follikelbildung selber und die damit verbundene Weiterentwicklung der Epithelialzellen zum hochschichtigen Follikelepithel unterbleiben dagegen in den agametischen Ovarien. Geigy und Aboim schliessen daraus, dass, entgegen der übrigen Gonadenentwicklung, für die Follikelbildung die Gegenwart von Keimzellen unerlässlich ist. Zum gleichen Postulat kommt auch Gloor (1943) auf Grund der Verhältnisse bei den sterilen Ovarien der Letalmutante *lgl.* Daraus ergibt sich nun die Vermutung, dass im Ovar ausser einer hormonalen Steuerung durch die Ringdrüse auch interne Korrelationsmechanismen, bei denen die Keimzellen eine Rolle spielen, die harmonische Entwicklung sichern.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, über diese Vorgänge Genaueres zu erfahren. Die experimentellen Eingriffe von Geigy und Aboim beschränken sich auf die frühesten Stadien der Eientwicklung. Sie führen zur Bildung primär steriler Gonaden, die nie mit Keimzellen in Kontakt kommen. Daher können solche primär agametischen Gonaden keine nähern Aufschlüsse

über die Einwirkung der Keimzellen auf das somatische Gewebe geben. Zur Analyse dieser Vorgänge musste versucht werden, die Keimzellen erst nach einer gewissen Entwicklungszeit innerhalb der Gonade zu entfernen. E. HADORN gelang es 1947 (unveröffentlicht), aus freisezierten Ovarien verpuppungsreifer Larven die Keimzellen durch Ausquetschen mit einer Nadel zu entfernen und diese „s e c u n d ä r agametischen Ovarien" durch Implantation in eine Wirtslarve zur Entwicklung zu bringen. In Weiterführung dieser Versuche wurde in der vorliegenden Arbeit die Ausschaltung der Keimzellen auch bei verschiedenen Stadien der Puppenruhe erreicht. Bei Larvenovarien waren neben der von HADORN verwendeten Technik auch *in vitro*-Bestrahlung der Ovarien mit ultraviolettem Licht wirksam. Für die Puppenovarien wurde eine Methode zur Röntgenbestrahlung ausgearbeitet, da aus technischen Gründen hier nur noch eine Behandlung *in situ* möglich war. Diesen Versuchen musste eine Untersuchung der nymphalen Ovarentwicklung vorangehen. Bei GUYÉNOT und NAVILLE (1929, 1933), GEIGY (1931), KERKIS (1933), ABOIM (1945) u.a. finden sich darüber zwar zum Teil sehr ausführliche Angaben, doch wurden sie unter anderen Voraussetzungen und an anderen *Drosophila*-stämmen gewonnen und konnten deshalb nicht ohne weiteres übernommen werden. Ausserdem mussten einige Widersprüche zwischen den Angaben verschiedener Autoren geklärt werden. Als Grundlage zu unseren Experimenten fehlte vor allem eine auf die Entwicklung des somatischen Ovargewebes bezogene Darstellung des zeitlichen Ablaufes der Oocytogenese. Die diesbezüglichen Ergebnisse sind in einem besonderen Abschnitt dem experimentellen Teil dieser Arbeit vorangestellt. Sie lieferten die Grundlagen, nach denen für die experimentellen Eingriffe entwicklungsphysiologisch besonders geeignete Stadien der Ovar- und der Gesamtentwicklung gewählt und nach denen in den behandelten Ovarien die Entwicklungsleistung des Restgewebes beurteilt werden konnten. Dabei standen die folgenden Fragen im Vordergrund:

1. In welchem Zeitpunkt setzt die Beeinflussung der Ovarentwicklung durch die Keimzellen ein ?

2. Wirken die Keimzellen a k t i v , oder nur durch ihre r ä u m l i c h e G e g e n w a r t auf das somatische Ovargewebe ein ?

3. Steht das somatische Gewebe von einem gewissen Zeitpunkt an unter dauernder oder nur periodischer Beeinflussung durch die Keimzellen ?

B. MATERIAL UND TECHNIK

Material: Zu allen Versuchen wurde der Wildstamm „Berlin-Inzucht" von *Drosophila melanogaster* Meig verwendet. „Berlin-Inzucht" ist ein seit Jahren im Zoologischen Institut der Universität Zürich ingezüchteter Wildstamm.

Die Zuchttemperatur beträgt überall 25 ± ¼° C.

Das Futter war nach folgenden Proportionen zusammengesetzt: 125 g Mais, 60 g Zucker, 7,5 g Agar-Agar, 9,4 g Trockenhefe auf 940 g Wasser.

Histologische Technik: Das *Drosophila*ovar ist schwierig zu schneiden und zu färben. Zudem handelt es sich bei unsern Experimenten um eine grosse Zahl kleinster Objekte. Es sei daher die hier verwendete Methode, welche auf rationelle Weise zu guten Resultaten führte, genauer angegeben. Als geeignetstes Fixierungsmittel erwies sich für unsere Zwecke Bouin. Die Ovarien wurden mindestens 12 h lang fixiert und während ca 24 h in mehrfach gewechseltem 70% Alkohol gründlich ausgewaschen. Darauf wurden 10—15 Ovarien zusammen in einen Tropfen 70% Alkohol auf einem Objektträger gebracht und orientiert. Kurz vor dem Eintrocknen wurden sie mit einem nicht zu heissen Tropfen Agarlösung (1,2%) flach überzogen und wo nötig unter der Binocularlupe vor dem Erstarren des Agars nachorientiert. Die erstarrte Agarplatte wurde mit Hilfe einer Rasierklinge zum Härten in 70% Alkohol geschoben und über steigenden Alkohol, Methylbenzoat, Benzol in Paraffin eingebettet (Alkoholstufen je ½ h, absolutus 1 h, 3× Methylbenzoat mindestens bis zum Untersinken, Benzol-Benzolparaffin zusammen ¼ h). Der Aufenthalt im flüssigen Paraffin sollte bei dotterhaltigen Ovarien nicht weniger als 4 Tg. dauern. Das Schnittergebnis wird umso besser, je länger die Objekte im flüssigen Paraffin verbleiben, sofern die Temperatur 60° C nicht erreicht.

Das vorangehende Einbetten in Agar hat verschiedene Vorteile: Es können viele Objekte gemeinsam in einem einzigen Arbeitsgang durch die verschiedenen Chemikalien geführt werden, ohne dass der Verlust kleiner Objekte zu riskieren ist. — Die Agarplatte ist im Paraffinblock gut sichtbar, so dass an ihr die Schnittrichtung bestimmt werden kann. Damit ist auch bei kleinsten, im Paraffin nicht mehr sichtbaren Objekten, die zudem auch bei der Erstellung der Blöcke nicht wie die Agarplättchen in einer bestimmten Lage fixiert werden könnten, orientiertes Schneiden möglich. — Hartes Paraffin (Schm. 58 und mehr ° C), wie es zum Schneiden dotterhaltigen Materials nötig ist, wird durch den

Agar so geschmeidig, dass es selbst bei Ovarien mit reifen Eiern mühelos gelingt, bis zu 10 μ dicke Bänder zu schneiden. Agar hat gegenüber dem in solchen Fällen sonst verwendeten Celloidin den Vorteil, dass die Objekte sofort nach dem Fixieren darin eingebettet werden können, wodurch Verluste verhindert werden und Zeit gespart wird. Der Agar dringt zwar nicht wie das Celloidin in die Objekte ein, weshalb nicht die gleiche Festigkeit erreicht wird. Dennoch erhielten auch reife Ovarien genügend Halt im Paraffin.

Gefärbt wurde mit saurem Hämalaun n. Mayer mit Chromotrop als Gegenfärbung. *Drosophila*ovarien haben die unangenehme Eigenschaft, dass sich das Zytoplasma mit Kernfarbstoffen klumpig überfärbt, und zwar lange bevor eine genügende Kernfärbung erreicht ist. Dies kann verhindert werden, wenn der Färbung eine Ribonucleasebehandlung vorgeschaltet wird. Die Hydrolyse wurde mit zentrifugiertem und während 10′ auf 90° C erhitztem Speichel vorgenommen (Kristallisierte Ribonuclease war zu Beginn dieser Arbeit in der Schweiz noch nicht erhältlich.). Hydrolysedauer 2 h bei 50° C. Derart vorbehandelte Ovarien zeigen mit Hämalaun und Chromotrop eine klare Kern- und Plasmafärbung.

Weitere Untersuchungsmethoden werden im Zusammenhang mit den Einzelproblemen beschrieben.

C. DIE IMAGINALE DIFFERENZIERUNG DES NORMALEN OVARS

1. Das Vorpuppen- und Puppenovar.

Die Entwicklung der somatischen Teile des Puppenovars wurde von Aboim (1945) sehr eingehend beschrieben. Guyénot und Naville (1929, 1933) haben ebenso ausführlich die Zytologie der gonialen Teilungen und der Reifeteilungen bearbeitet. Die Verhältnisse beim Wildstamm „Berlin-Inzucht“ von *Drosophila melanogaster* stimmen bis auf wenige Abweichungen, die weiter unten diskutiert werden sollen, mit den von diesen Autoren erhobenen Befunden überein. Es ist deshalb nicht nötig, hier mehr als einen Abriss der Differenzierung des Puppenovars bei „Berlin-Inzucht“ zu geben. Etwas ausführlicher wird dagegen der zeitliche Ablauf der Oocytogenese im Rahmen der somatischen Differenzierung und in Beziehung zum Puppenalter behandelt, da meines Wissens noch nichts darüber veröffentlicht worden ist.

a) *Material und Methode.*

Zur Gewinnung von Vorpuppen und Puppen bekannten Alters wurden 12 h-Gelege von rund 20 Weibchen aus gut genährten Zuchten (s. S. 115) und im besten Legealter bei 25 ± ¼° C in einer Standardschale auf Futter mit reichlichem Frischhefezusatz aufgezogen. Von den sich verpuppenden Larven wurden diejenigen gesammelt, deren Puparium schon erhärtet, aber noch rein weiss war. Die Erhärtung erfolgt bei Berlin-Inzucht 10′, der erste Anflug von Bräunung 25—30′ nach der Pupariumbildung. Auf diese Weise erhält man somit Tiere, die auf ± 10′ genau das gleiche Alter haben. Es ist nicht empfehlenswert, die Tiere vor dem Erhärten des Pupariums zu sammeln, da sie bis dahin noch leicht durch Berühren in ihrer Entwicklung gestört werden können. Aus den einzelnen Schalen wurden nur solange Tiere entnommen, als die Futterbedingungen darin gut waren. Die gesammelten Puppen wurden in Schälchen auf feuchtem Filtrierpapier weiter gezüchtet, wobei darauf zu achten war, dass die Stigmen frei lagen. Die Sektion erfolgte bis zum Alter von 27 h nach der Pupariumbildung in einstündigen Abständen, später in 2- und 12-stündigen Intervallen. Die gleichzeitig gesammelten Tiere einer Zuchtschale wurden auf viele Untersuchungsserien verschiedenen Alters verteilt, um für die ganze Untersuchungsreihe möglichst homogene Voraussetzungen zu schaffen.

Die Ovarien wurden im 0,74% NaCl-Lösung herauspräpariert und in Orcein-Essigsäure gequetscht. Auf diese Weise erhaltene Kernbilder stehen an Klarheit denen von Dauerpräparaten nicht nach. Solche wurden zur Verifizierung neben den Quetschpräparaten zugezogen. Die Präparation dauerte für jede Serie höchstens 10′, so dass mit Einberechnung des Fehlers von ± 10′, der beim Sammeln entsteht, das Alter der Ovarien auf ± 15′ genau angegeben werden kann.

b) *Die Entwicklung des somatischen Ovargewebes.*

Im Moment der Pupariumbildung zeigt das Ovar bei „Berlin-Inzucht" eben erst die Anlage der Terminalfilamente. Die zum grossen Teil schon abgeflachten und geldrollenartig übereinander geschichteten Zellen bilden die charakteristischen, gegen oben abgerundeten Kegel, die von einer Zellkappe überdacht, das distale Drittel des Ovars bilden (Abb. 1, T; 2a). Die Filamentzellen sind noch sehr breit. Sie haben etwa das Volumen der Oogonien (O). Diese liegen scheinbar ungeordnet und frei zwischen den Filamenten und dem Basalgewebe (B), welches das proximale Drittel des Ovars einnimmt.

Die Bildung des *Germariums* erfolgt noch innerhalb der Vorpuppenzeit, d.h. vor Ausstülpung des Kopfes um die 11. Stunde nach der Pupariumbildung. Sie schreitet von den Filamenten aus-

gehend gegen basal zu fort. Die meisten Ovariolen sind 7 Stunden nach der Pupariumbildung (h.n.P.) basal geschlossen. Um diese Zeit liegen nur noch ganz vereinzelt Oogonien ausserhalb von Ovariolen. Das Ovariolenepithel, welches nach GEIGY (1931) wie die Terminalfilamente und die Basisstiele (s. anschliessend) aus Epithelialzellen besteht, erscheint als dünne Membran mit spärlichen Kernen; da und dort schieben sich spindelförmige Epithelialzellen zwischen die Keimzellen ein. Das Epithel behält sein Aussehen im Bereich des Germariums ständig bei und erfährt erst bei der Bildung der Follikel im Follikelbereich eine weitere Umgestaltung. Der Fuss der Ovariole wird von einer kleinen Gruppe polygonaler Zellen gebildet (Abb. 2b), die das gleiche Aussehen wie die Zellen des Basalgewebes haben. Diese beiden Gewebe sind nicht deutlich gegeneinander abgegrenzt. Im Verlaufe der Entwicklung wächst diese Zellgruppe zum *Basisstiel* aus. Bei Ovarien im Alter von 20 h.n.P. bildet die Anlage des Basisstieles einen Kegel, der etwa halb so lang wie das Germarium ist (Abb. 2c). 24 h.n.P. ist sie zum rasch nach unten sich verjüngenden Stiel ausgewachsen, in dem die Zellen dachziegelartig in zwei Zeilen angeordnet sind. Der Basisstiel hat jetzt seine grösste Länge erreicht; er ist annähernd so lang wie Germarium und Terminalfilament zusammen (Abb. 2d). Während des zweiten Puppentages erfährt der Basisstiel keine merkliche Veränderung, er wird dann aber während des dritten Tages rasch reduziert. Zur Zeit, da der erste Follikel fertig abgeschnürt ist, findet sich vom Basisstiel nur noch ein dünner, einzellreihiger Faden, der knapp die Länge des Follikeldurchmessers hat. Zwölf Stunden später, d.h. drei Tg.n.P. besteht der Basisstiel nur noch aus wenigen hyalinen Zellen mit körnigen Überresten von Kernen (Abb. 2g). Die Entwicklung des Basisstieles nimmt damit

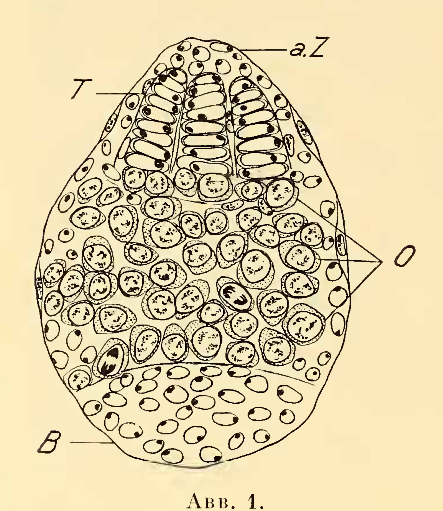


ABB. 1.
Junges Vorpuppen-Ovar (halbschematisch).
a.Z apicale Zellkappe; B Basalgewebe; O Oogonien; T Terminalfilamente.

bei „Berlin-Inzucht" einen andern Verlauf, als ihn BODENSTEIN (1950) für einen andern Wildstamm von *Dros. mel.* beschrieben hat. Nach seinen Angaben bleibt dort der Basisstiel erhalten und wird zur Röhre, durch welche die Eier in den Calyx austreten.

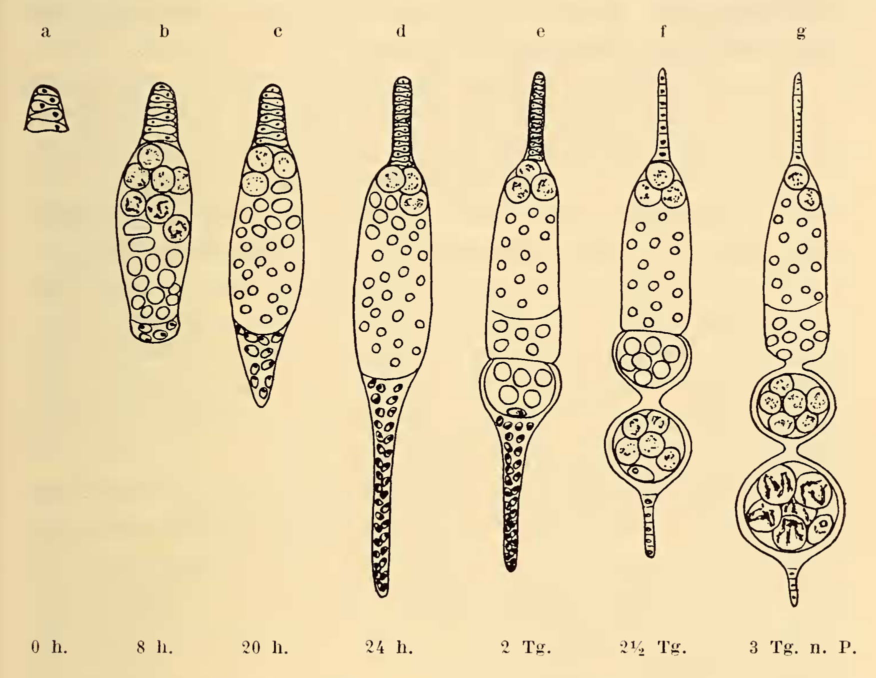


ABB. 2.

Schema der Oocytogenese und der Ovariolen-Entwicklung (nach Quetschpräparaten zusammengestellt). a: Terminalfilament angelegt. b: Ovariole geschlossen; Oocytogenese basal begonnen, basal Kerne der Grössenklassen II und III, noch keine Oocyten I. c: Oocytogenese basal in der Hauptsache abgeschlossen, basal Kerne der Grössenklasse I (Oocyten I); Basalstiel auswachsend. d: Oocytogenese auch median grösstenteils abgeschlossen, basal und median Kerne der Grössenklasse I; Basalstiel voll ausgewachsen, Terminalfilament stark verschmälert. e: 1. Follikel bei vielen Ovariolen in Bildung, 2. Follikel angedeutet; ausser 2—5 Oogonien apical nur noch Kerne der Grössenklasse I, abgetrennte Oocyten I heranwachsend, Eikern des 1. Follikels im Ruhestadium der Prophase der RT I; Rückbildung des Basalstiels eingeleitet, Terminalfilament noch stärker verschmälert. f: 1. Follikel abgeschnürt, 2. Follikel in Bildung; Oocyten des 1. Follikels mit Ausnahme des Eikernes von Grösse und Aussehen der apicalen Oogonien; Basalstiel und Terminalfilament stark reduziert mit pyknotischen Kernen. g: 2. Follikel abgeschnürt, 3. Follikel angedeutet; Basalstiel fast vollständig verschwunden; Eikern des 1. Follikels heranwachsend, sonst unverändert, die andern Oocyten I des 1. Follikels mit pachytänartigen endomitotischen Chromosomen, diejenigen des 2. Follikels von Aussehen und Grösse der apicalen Oogonien.
Zeitangaben in Stunden bzw. Tagen nach der Pupariumbildung.

Im gleichen Masse, wie sich der Basisstiel verlängert und die Ovariolen heranwachsen, wird das Basisgewebe reduziert. Im „Birnenstadium" (M. Vogt 1942) des Ovars, während der ersten 12 h.n.P., nimmt es ⅓ bis ½ der Ovarlänge ein. Von diesem grossen Gewebekomplex ist nach 2½ Tagen nur noch eine dünne, dem Calyx anliegende Zellschicht zu finden.

Das *Terminalfilament* macht eine ähnliche Entwicklung wie der Basisstiel durch. Während der ersten zwanzig Stunden verändert es sich wenig, wird dann aber rasch schmäler und streckt sich in die Länge. Mit 24 h.n.P. ist das Filament noch etwa halb so breit wie ursprünglich und bis zum Alter von 48 h.n.P. haben die Filamentzellen ungefähr ⅔ ihrer anfänglichen Breite eingebüsst (Abb. 2d, e). Die charakteristische Zellgestalt wechselt dabei jedoch nicht. Erst in der ersten Hälfte des dritten Puppentages verändern sie ihr Aussehen. Sie bekommen eine länglich kantige Form und die Kerne kugeln sich ab. Nach drei Tagen besteht auch das Terminalfilament nur noch aus hyalinen Zellen mit pyknotischen Kernen ähnlich der Zellen des Basisstieles (Abb. 2f-g).

Die *Follikelbildung* setzt mit knapp 48 h.n.P. ein, indem basal in die Germarien einwandernde, spindelförmige Epithelialzellen die erste Sechzehnergruppe von Keimzellen von ihm abgrenzen. Mit 60 h.n.P. ist dieser Vorgang beendet und der erste Follikel durch einen kurzen, einzellreihigen Stiel vom Germarium getrennt. Das lockere, membranöse Ovariolenepithel hat sich dabei rund um den Follikel zum kubischen Follikelepithel zusammengeschlossen (Abb. 2 e-f). Gleichzeitig beginnt sich die Abtrennung des zweiten Follikels abzuzeichnen. Mit 72 h.n.P. ist auch dieser fertig gebildet und die Abtrennung des dritten Follikels hat begonnen (Abb. 2g).

Diese Zeiten stimmen mit den von Aboim (1945) gefundenen gut überein, wenn man die im ganzen längere Entwicklungszeit berücksichtigt (4½—5 Tg Puppenzeit bei der Zuchttemperatur von 24° C gegenüber von 4 Tg bei 25° C). Der einzige ins Gewicht fallende Unterschied betrifft den Abschluss der Ovariolenbildung, der nach Aboim erst in vorgeschrittener Puppenzeit erfolgen soll, während nach unseren Feststellungen dieser Vorgang noch innerhalb der bis 11 h.n.P. dauernden Vorpuppenzeit beendet wird. Mit wenigen Ausnahmen sind 7 h.n.P. die Oogonien in die Ovariolen eingeschlossen. Dies entspricht auch der Erwartung, weil, wie wir später sehen werden, die Entwicklung der basal liegenden Oogonien

zu Oocyten I eben um diese Zeit einsetzt. Da dieser Umwandlungsprozess zuerst die basalen Oogonien erfasst und die höher liegenden erst anschliessend in streng aufsteigender Folge damit beginnen (s. S. 104), ist es wenig wahrscheinlich, dass die Ovariolen zu diesem Zeitpunkt basal noch offen sind und von dort her nachträglich weitere Oogonien eingegliedert werden. Bei Aboim sind keine Angaben über die Entwicklung der Keimzellen zu finden. Man müsste annehmen, dass in seinem Material die Umwandlung der Oogonien zu Oocyten I auch viel später einsetzt, da die Ovariolen erst soviel später ausgebildet sind. Diese unterschiedlichen Befunde würden aber bedeuten, dass der Abschluss der Ovariolenbildung bei verschiedenen *melanogaster*-Stämmen in verschiedenen Metamorphosestadien stattfindet. Es darf hier jedoch nicht unerwähnt bleiben, dass wir selber zuerst anhand der Schnittpräparate glaubten, dass in der Vorpuppe noch keine fertigen Ovariolen vorhanden seien. Erst die Quetschpräparate liessen dies als Irrtum erkennen. Solange der Spalt zwischen den Ovariolen und dem interstitiellen Gewebe noch nicht besteht, ist es kaum möglich, die dünne Ovariolenmembran im Schnitt zu erkennen und zu verfolgen. Es wäre deshalb nicht erstaunlich, wenn auch Aboim die Membran in den frühen Stadien entgangen wäre.

Die Angabe von Kerkis (1933), wonach schon zur Zeit der Pupariumbildung fertige Ovariolen zu finden seien, beruht, nach der Illustration in seiner Arbeit zu schliessen, auf einem Irrtum. Was auf dem photographierten Schnittbild eines vier Tage alten Larvenovars zu sehen ist, sind nicht fertige Ovariolen, sondern die sich bildenden Endfilamente (Kerkis 1933, Abb. 11, S. 507).

Unter diesen Umständen ist anzunehmen, dass der Abschluss der Ovariolenbildung bei *Dros. mel.* allgemein in die zweite Hälfte der Vorpuppenzeit fällt.

c) *Oocytogenese.*

Kurz nach der Pupariumbildung ist der Mittelteil des Ovars von lauter grossen Oogonien angefüllt (nach Kerkis 1933 u.a. erreichen die Oogonien am vierten Larventag ihre maximale Grösse), deren Kerne ausser einem deutlichen Nucleolus kaum eine andere Struktur erkennen lassen. Im siebenstündigen Vorpuppenovar, d.h., zur Zeit, da die Ovariolenbildung abgeschlossen ist, weisen die Oogonienkerne noch die gleiche Grösse auf, nur zeigen

sie jetzt ein verändertes Aussehen. Der Nucleolus ist verschwunden, dagegen sind verwischt und schwach färbbar Chromosomen zu sehen. Die Oogonien sind aus der Interkinese in die Prophase eingetreten (Abb. 1, O). Das Aussehen der Chromosomen entspricht demjenigen, das GUYÉNOT und NAVILLE (1929, 1933) mit „prochromosomes effacés“ bezeichnen. Gleichartige Kerne sind in frisch gebildeten Follikeln wiederzufinden, und zwar enthält ein solcher Follikel 15 derartige Zellkerne neben einem basal liegenden, abgeflachten Kern, in dem unschwer der zukünftige Eikern zu erkennen ist (Abb. 2f). Es ist somit sicher, dass trotz des gleichen Aussehens hier nicht mehr Oogonien, sondern Oocyten I vorliegen. Wann ist nun diese Umwandlung erfolgt ? Oder handelt es sich etwa schon bei den Keimzellen der siebenstündigen Vorpuppenovarien um Oocyten I ? Da es für diese Frage, wie wir soeben gesehen haben, keine morphologische Entscheidung gibt, musste dazu der Zeitpunkt der Umwandlung selber erfasst werden.

Es ist bekannt (GUYÉNOT und NAVILLE 1929), dass die vier letzten oogonialen Teilungen, in deren Verlauf aus jeweils einer Oogonie 16 Schwesteroocyten entstehen, synchron ablaufen. Daher sind diese Teilungen daran zu erkennen, dass bei ihnen nicht wie bei den gewöhnlichen, der Oogonienvermehrung dienenden Teilungen, Einzel-Mitosen vorliegen, sondern dass man 2, 4 oder 8 nebeneinanderliegende Mitosen vorfindet. Die Wahrscheinlichkeit, dass solche Mitosengruppen zufällig auftreten, ist bei der schwachen Mitosetätigkeit der Keimzellen verschwindend klein (s. S. 104). Es galt also, die Zeitspanne zu finden, in der solche Mitosengruppen vorkommen.

Nun war anzunehmen, dass auch diese Umwandlung während des grossen Metamorphoseschubes des ersten Puppentages erfolge. Ebenso konnte man vermuten, dass die Oocytogenese erst nach beendeter Ovariolenbildung einsetzt, d.h. erst wenn die Oogonien in den Ovariolen eingeschlossen sind. Dies ist, wie auf S. 98 dargestellt wurde, zwischen 6—7 h.n.P. der Fall. Aus diesen Überlegungen heraus wurde für die Untersuchung wie folgt vorgegangen: Beginnend bei 7 h alten Vorpuppenovarien wurden Serien von Quetschpräparaten mit je einer Stunde Altersunterschied hergestellt und untersucht, mit welcher Häufigkeit im basalen, mittelständigen und apicalen Teil der Ovariolen Zweier-, Vierer- und Achtergruppen von Mitosen gefunden werden. Die Ergebnisse dieser

Tabelle 1 *a* und *b*.

	a.												b.				
Alter in h.n.P.	Anzahl der Ovarien	Anzahl der Ovariolen	Häufigkeit der Mitosegruppen in ‰ der untersuchten Ovariolen										Auftreten der Kerngrössenklassen I—IV			Anzahl der Ovario-len	Anzahl der Ovarien
			apical			mittelständig			basal								
			8er	4er	2er	8er	4er	2er	8er	4er	2er		apical	mittelständig	basal		
7	11	150	—	—	—	—	—	20	—	—	20		IV	IV	III IV	63	5
8	11	173	—	—	—	—	6	23	—	17	40						
9	13	194	—	—	—	—	5	5	15	26	26						
10	12	221	—	—	—	—	—	9	9	14	—						
11	13	170	—	—	—	—	6	23	18	23	23						
12	13	182	—	—	5	—	44	27	—	27	11		IV	II III	(I) II	41	4
13	14	215	—	—	5	—	14	19	42	23	—				IV	5	
14	12	185	—	5	—	5	11	—	5	5	—						
15	13	204	—	—	5	5	34	14	34	10	10						
16	13	237	—	—	21	17	55	40	21	7	7						
17	14	184	—	11	11	33	44	5	44	27	5		III IV	I II (III)	I (II)	115	9
18	12	157	—	25	19	25	51	13	19	19	13				IV	14	
19	11	204	10	20	24	39	44	—	29	5	5						
20	12	194	5	10	31	52	31	—	21	5	—		II III IV	I II	I	115	8
21	13	213	14	28	47	66	28	—	5	—	—				IV	6	
22	14	199	35	15	5	35	10	—	10	—	—						
23	8	103	74	19	—	19	10	—	—	—	—						
24	13	208	29	34	10	29	19	—	—	—	—						
25	13	216	23	18	5	5	9	—	—	5	—		I II IV	I (II)	I	112	8
26	13	206	29	44	29	34	29	5	10	5	—				IV	2	
27	13	242	8	29	21	25	8	—	(8)	—	(4)						
29	9	159	70	44	13	13	—	—	6	—	—						
31	8	161	37	19	12	12	—	—	—	—	—		I IV	I	I	113	8
Total:	278	4 278															

a: *Der zeitliche Ablauf der oocytogenetischen Teilungen.* (Die eingeklammerten Werte bezeichnen Mitosen aus ungewöhnlich kurzen Ovariolen.) b: *Das Auftreten der verschiedenen Kerngrössenklassen im Verlauf der Oocytogenese.* Die eingeklammerte Klasse ist spärlicher vertreten. Bei jedem Stadium ist in der untern Zeile die Anzahl der Nachzügler-Ovariolen mit basalen Oogonien angegeben.

Untersuchung sind in Tab. 1a zusammengefasst. Es konnten nur die Metaphasen und die Anaphasen für die Zählung berücksichtigt werden, weil nur diese Stadien mit Sicherheit zu zählen waren. Ebenso musste die erste der vier letzten Teilungen weggelassen werden, da diese nicht von den gewöhnlichen Oogonienteilungen unterschieden werden kann.

Bei siebenstündigen Vorpuppenovarien findet man basal und median Zweier-Mitosegruppen; höhere Gruppen kommen noch nicht vor. Schon eine Stunde später treten basal und median auch Vierer-Mitosegruppen auf und mit 9 h.n.P. sind basal die ersten Achter-Mitosegruppen zu sehen; dies bedeutet, dass *9 Stunden nach der Pupariumbildung die ersten Oocyten I zu erwarten sind.* Die Achter-Mitosegruppen kommen im basalen Teil der Ovariolen bis zum Alter von 22 h und sporadisch auch noch in höherem Alter vor. Bei diesen sehr späten Achtermitosen handelt es sich z. T. deutlich um Nachzügler in aussergewöhnlich kurzen Ovariolen. Fast ebensolange kommen basal Vierer- und Zweier-Mitosegruppen vor. Aus der Tabelle 1a ist sodann zu entnehmen, dass die drei Mitosegruppen etwa im gleichen Intervall verschwinden, wie sie aufgetreten sind. Dieses stufenweise Auftreten und Verschwinden setzt sich kontinuierlich in den medianen und apicalen Teil der Ovariolen fort. 31 h.n.P. ist im Allgemeinen die Umwandlung der Oogonien in Oocyten I beendet. Nur apical bleibt in jeder Ovariole eine gewisse Anzahl von Oogonien (2—5) über die Nymphalzeit hinaus bis weit in die Imaginalzeit hinein erhalten.

Die Entwicklung der Oogonien zu Oocyten I erfolgt also nicht simultan, sondern ist ein zeitlich tief gestaffelter Prozess, der streng von basal nach apical fortschreitet. Dies kommt in der Tabelle 1a durch die diagonale Lage des Zahlenfeldes klar zum Ausdruck.

Die absoluten Anzahlen der gefundenen Mitosen sind sehr klein. 5‰ der Tab. 1a entsprechen ungefähr einer Mitosegruppe. Die Schwankungen der Häufigkeit innerhalb und zwischen den Gruppen müssen deshalb zum grossen Teil für zufällig, und durch Beobachtungsfehler bedingt, angesehen werden. Es war z.B. im basalen Teil viel schwieriger als im mittelständigen und apicalen, die Mitosegruppen zu zählen. Immerhin lässt sich doch in jeder

Kolonne ein Häufigkeitsmaximum erkennen, und diese Maxima verschieben sich ungefähr parallel zum Auftreten der Mitosegruppen.

Dass trotz der kleinen Werte durch das Auszählen der Mitosegruppen die Gesamtentwicklung zuverlässig wiedergegeben wird, zeigt eine weitere Untersuchung, deren Resultate in Tab. 1b dargestellt sind. In den Quetschpräparaten ist deutlich zu erkennen, dass mit fortschreitender Oocytogenese die Grösse der Keimzellen von apical nach basal sprunghaft abnimmt. Zwar kann die Zellgrösse im Quetschpräparat nicht direkt beobachtet werden, da hier die Zellgrenzen nicht sichtbar sind. Gut zu sehen ist dagegen die Grössenabnahme der Kerne. Es konnten 4 Grössenklassen von Kernen (I—IV) unterschieden werden, deren jede etwa doppelt so gross wie die nächst kleinere ist. Da nun die kleinern Kerne zugleich näher zusammengerückt sind, ist anzunehmen, dass die Kern-Plasma-Relation überall dieselbe ist, d.h. die ganzen Zellen kleiner geworden sind. Die Abnahme der Kerngrösse wird auch von Guyénot und Naville (1933) erwähnt. Mit ihr übereinstimmend, werden im Verlauf der letzten vier oogonialen Teilungen auch die Kernteilungsfiguren von Mitose zu Mitose kleiner. Die Chromosomen einer Achter-Mitosegruppe weisen nur noch einen Bruchteil der Länge von Chromosomen einer Einzel- oder Zweiermitose auf und die Spindeln bedecken ein viel kleineres Areal (Abb. 3).

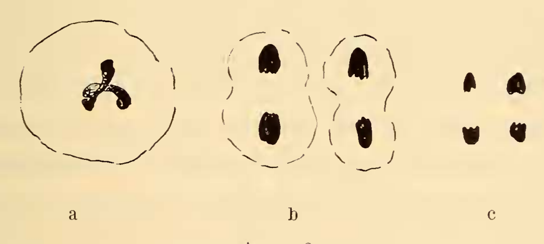


Abb. 3.

Abnahme der Chromosomengrösse im Verlauf der oocytogenetischen Teilungen. (Quetschpräparat.) a: Chromosomen aus der Metaphase einer Einzelmitose. b: 2 Anaphasen einer Vierer-Mitosegruppe. c: 2 Anaphasen einer Achter-Mitosegruppe. Zeichnung nach einer Mikrophoto. Vergr. ca 1150 ×.

Beim Vergleich von Tab. 1a mit Tab. 1b wird die Korrelation zwischen Kerngrösse und Stand der Oocytogenese deutlich. Ovarien siebenstündiger Vorpuppen mit basalen Zweier-Mitosegruppen enthalten mittelständig und

apical Kerne von Oogoniengrösse (Grössenklasse IV), basal dagegen in den meisten Ovariolen Kerne, die schätzungsweise nur halb so gross (Grössenklasse III) wie die mittelständig und apical liegenden sind. Um die Zeit der basalen Vierer-Mitosegruppen treten basal Gruppen von unter sich wieder gleichgrossen Kernen auf, die dem Anschein nach wiederum nur etwa die halbe Grösse (Grössenklasse II) der basalen Kerne aus den siebenstündigen Vorpuppenovarien aufweisen. Ovariolen im Stadium der basalen Achter-Mitosegruppen und damit auch der mittelständigen Vierer- und der apicalen Zweiergruppen, enthalten fast durchwegs vier Grössenklassen von Kernen. Auf die Gruppe der kleinsten Kerne (Grössenklasse I) am Grunde der Ovariolen, welche gegenüber den basalen Kernen der Ovariolen mit basalen Vierer-Mitosegruppen ebenfalls um die Hälfte verkleinert erscheinen, folgen ansteigend die Gruppen der Grössenklassen II—IV. Grössenklasse I enthält die kleinsten generativen Kerne der ganzen Nymphal- und Imaginalentwicklung. Ihr gleichzeitiges Auftreten mit den Achter-Mitosegruppen lässt in ihnen unschwer die Kerne frisch entstandener Oocyten I erkennen.

Im Gegensatz zu den vereinzelten Funden von Mitosegruppen gelten die Angaben über die Kerngrösse stets für fast alle Ovariolen der untersuchten Ovarien (s. Tab. 1b). Berücksichtigt man dazu die Korrelation zwischen dem Auftreten der nächsthöhern Mitosegruppe und dem Erscheinen der nächstkleinern Kerngrössenklasse, so ergibt sich mit genügender Sicherheit, dass die wenigen Promille registrierter Mitosegruppen die Entwicklung des gesamten Keimmateriales gültig wiedergeben. Die geringe Anzahl an gefundenen Mitosegruppen muss auf dem raschen Ablauf der Mitosen beruhen.

Aus den gesammelten Daten kann approximativ die gemeinsame *Dauer von Meta- und Anaphase* errechnet werden. Basale Achter-Mitosegruppen wurden regelmässig während 13 h (9—22 h.n.P.) gefunden. Während dieser 13 h wurden insgesamt 2759 Ovariolen untersucht. In 54 davon wurden Meta- oder Anaphasen der Achter-Mitosegruppe festgestellt, d.h. in $^1/_{51}$ der möglichen Fälle. Um mit einer Wahrscheinlichkeit von $^1/_{51}$ erfasst zu werden, müsste die Dauer der beiden Mitosephasen $13 \times 60 : 51$ Minuten betragen, das sind 15,3′. Da zudem in dem mit basal bezeichneten Abschnitt die Mitosen von 2—3 Oogonien zusammengefasst werden, kann die Dauer von Metaphase und Anaphase annähernd mit

5—7,6′ angegeben werden. Die analoge Berechnung, basierend auf der Anzahl der gefundenen Vierer-Mitosegruppen im basalen Abschnitt, ergibt eine Dauer von 4,5—6,8′. Nach diesem Ergebnis verlaufen die Teilungen der Keimzellen im nymphalen Ovar zwar rasch, aber immer noch langsamer als die extrem kurzen Furchungsmitosen, die nach RABINOWITZ (1941) in weniger als einer Minute beendet sind. Dagegen entspricht unsere, für die Keimzellen berechnete Dauer von Meta- und Anaphase sehr gut den Zeiten, die für andere Objekte gefunden wurden (s. Zusammenstellung bei SCHRADER 1953).

Um die Beobachtung über die *Abnahme der Kerngrösse* in den Keimzellen weiter zu stützen, wurden an Schnittpräparaten von Puppenovarien mit basalen Vierer- und Achtermitosegruppen auch Kerne gemessen.

An den Quetschpräparaten selber waren Messungen wegen der raschen Veränderlichkeit und der unterschiedlichen Bedingungen von Präparat zu Präparat zwecklos. Bei der Messung wurde je die Länge des längsten (a) und des kürzesten Durchmessers (b) der mehr oder weniger regelmässig elliptischen Kerne bestimmt. Daraus lässt sich annähern der Kerninhalt bestimmen, wenn der Kern als Rotationsellipsoid mit dem Inhalt $I = 4/3\, \pi \times a/2 \times (b/2)^2$ aufgefasst wird. Um eine willkürliche Auswahl der Kerne zu vermeiden, wurden zuerst alle Kerne eines Ovariolenschnittes ausgemessen; sobald auf diese Weise von einer der vier Grössenklassen 20 Kerne registriert waren, wurde diese Klasse bei den nachfolgenden Messungen weggelassen, sonst aber wiederum alle im Ovariolenschnitt vorhandenen Kerne berücksichtigt. Auf diese Weise wurde der Inhalt von insgesamt 80 Kernen bestimmt.

Das Resultat dieser Untersuchung ist in Abb. 4 aufgezeichnet. Die Verteilung der Kerne auf vier Grössenklassen ist klar ersichtlich. Statistisch sind die Unterschiede zwischen den vier Klassen mit einem $P < 0{,}001$ (t-Test) alle stark gesichert. Die geschlossenste Verteilung weist die Klasse der kleinsten Kerne (I), d.h. die Klasse der Oocyten I, auf, obwohl hier infolge der Kleinheit der Kerne die grössten Messfehler zu erwarten sind. Die Verteilung der Werte in der Klasse IV (Oogoniengrösse), ist stark asymmetrisch. Dies ist hauptsächlich durch die maximale Kerngrösse in dieser Klasse bedingt. Die Prüfung der Homogeneität der Klasse IV ergibt denn auch, dass im Gegensatz zu den Klassen I—III weniger als $^2/_3$ der Fehler innerhalb der Dispersion liegen. Nur wenn die beiden grössten Kerne nicht mit einbezogen werden, kann auch diese Klasse als

Normalverteilung betrachtet werden. Der statistische Nachweis des nach dem Augenschein angenommenen 1 : 2 Verhältnisses zwischen den einzelnen Kernklassen erfolgte mit dem t-Test, indem bei jeder Grössenklasse geprüft wurde, ob gegen die doppelten Werte der nächst niedrigeren Klasse ein Unterschied fehle. Nach dem selben Prinzip wurde mit der F-Verteilung zusätzlich getestet, ob zwischen den Klassen I—IV ein Grössenverhältnis 1 : 2 : 4 : 8, bzw. bei Weglassen der etwas suspekten Klasse IV zwischen I—III ein Grössenverhältnis 1 : 2 : 4 nachweisbar ist. Zu diesen beiden Verhältnisreihen bestehen jedoch stark gesicherte Unterschiede



Abb. 4.

Relative Kerngrössen während der Oocytogenese. Auf der Abszisse ist der relative Kerninhalt $I = a/2 \cdot (b/2)^2$ eingetragen. Das konstante Glied $4\,\pi/3$ wurde vernachlässigt. Masseinheit (E): 23 E = 10 μ. Die Ordinate gibt die Häufigkeit (H) der Kerne innerhalb einer Klassenbreite von $5E^3$ an. Weitere Erklärung im Text.

($P < 0{,}001$); dagegen besteht kein Unterschied zum 1 : 2 Verhältnis für die Paare I/II und II/III ($P = 0{,}8$ und 0,2), während für das Paar III/IV der Unterschied zum 1 : 2 Verhältnis fraglich ($P = 0{,}024$) ist. Aus diesen Berechnungen kann geschlossen werden, dass zwischen den letzten oogonialen Teilungen zwar noch ein gewisses Kernwachstum erfolgt. Dieses reicht gerade aus, um für die ganze Teilungsreihe das 1 : 2 : 4 : 8 Verhältnis zu verwischen. Die Grössenzunahme nach erfolgter Teilung genügt jedoch nicht, um für die einzelnen Teilungsschritte einen signifikanten Unterschied gegenüber einem 1 : 2 Verhältnis bei den zwei direkt auseinander hervorgehenden Kerngruppen zu bewirken.

Es bleibt noch ein Problem zu erörtern. Die Umwandlung der Oogonien in Oocyten I erfolgt in vier Teilungsschritten. Diese Teilungen seien im folgenden als oocytogenetische Umwandlungs-

teilungen und ihre Abkömmlinge als Umwandlungszellen bzw. -kerne bezeichnet. Aus den vier Umwandlungsteilungen wären nach den obigen Ergebnissen fünf Grössenklassen von generativen Kernen zu erwarten. Es sind jedoch nur deren vier gefunden worden. Eine davon, die Klasse IV, erwies sich nun, wie oben angegeben wurde (S. 107), als nicht homogen. Hier treten vereinzelt „zu grosse" Kerne auf. Solche konnten auch in den Quetschpräparaten beobachtet werden; ebenso wurden gelegentlich auffallend grosse Einzelmitosen festgestellt. Anderseits wird von den verschiedenen Autoren übereinstimmend angegeben, dass die Oogonien zu Beginn der Puppenzeit ihre maximale Grösse erreicht haben (s. S. 101). Diese maximale Grösse entspricht dem Durchschnittswert unserer Grössenklasse IV. Diese Befunde legen den Schluss nahe, dass in der Grössenklasse IV zwei verschiedene Kerntypen vereinigt sind. Es hat den Anschein, als ob sich die Oogonien unmittelbar vor der ersten oocytogenetischen Umwandlungsteilung plötzlich stark vergrössern und die ersten zwei Umwandlungskerne anschliessend wieder die ursprüngliche Oogoniengrösse erreichen. Damit wären unter der Grössenklasse IV Oogonienkerne und Kerne der ersten Umwandlungsteilung vereinigt und die folgenden Grössenklassen enthalten die Kerne von der zweiten Umwandlungsteilung an. Tatsächlich erscheinen die Kerne der Grössenklasse III denn auch zusammen mit der 2. Umwandlungsteilung (Zweier-Mitosegruppen, s. Tab. 1).

In der Zeit zwischen dem Abschluss der oocytogenetischen Umwandlungsteilungen und der Bildung der Follikel differenzieren sich die 16 Oocyten I einer Umwandlungsgruppe zu einer Eizelle und 15 Nährzellen. Für die basalste Gruppe erfolgt dieser Vorgang zwischen 9 und 48 h.n.P. Im sich bildenden Follikel ist die Eizelle an ihrem flach elliptischen, blassen Kern schon von den zukünftigen Nährzellen unterscheidbar, deren Kerne kugelig sind und Prochromosomen enthalten. Der Eikern selber hat in diesem Moment bereits den 1. Teil der Prophase abgeschlossen und befindet sich seinem Aussehen nach in dem von Guyénot und Naville (1933) beschriebenen Ruhestadium der Prophase der 1. Reifeteilung. Bei diesem sind die Prophasechromosomen eng um den Nucleolus geschart, so dass der Kern abgesehen vom Nucleolus optisch leer erscheint. In der gleichen Zeit sind die Oocyten auch gewachsen. Zwei Tage n.P. beträgt der Kerndurchmesser wieder etwa die Hälfte des Durchmessers von Oogonienkernen, 2½ Tage n.P. ist

die Kerngrösse der Oogonien erreicht und 3 Tage n.P. betragen die Kerndurchmesser das Doppelte der Durchmesser von Oogonienkernen. Diese Angaben betreffen aber nur die Kerne der Nährzellen; der Eikern wächst viel weniger stark. Dem Aussehen nach verändert sich dieser bis zum Eintritt in die Metaphase der 1. Reifeteilung kurz vor der Befruchtungsreife nur wenig. Die Ruhephase-Prochromosomen kondensieren sich zu einem stark färbbaren Ring, der nach dem Verschwinden der Nucleoli als „Pseudonucleolus" den Eikern kennzeichnet.

In den Nährzellen verdichten sich die anfänglichen „prochromosomes effacés" (Guyénot und Naville 1933). 2½ Tage n.P. enthalten die Kerne Leptotän-bis Pachytänchromosomen, bei denen deutlich die Zusammensetzung aus mehreren Chromatiden ersichtlich ist. Nach Painter und Reindorp (1939) sind die Chromosomen von Nährzellen mit einem Kerndurchmesser von 8 μ (Oogonienkerne 7 μ) durch Endomitose bereits in 8 Chromatiden aufgespalten. Die Kerne im Basalfollikel des dreitägigen Puppenovars sind schon hochploid. Ihre Chromosomen haben das Aussehen von grossen Pachytänchromosomen. Wenig später lockern sich diese Chromatidenbündel auf und die Chromatiden jedes Chromosoms bilden ein mehr oder weniger viereckig-flächiges Gebilde, d.h. die Chromosomen sind etwa so breit wie lang geworden. In den reifen Nährzellen stehen diese Chromatidenvierecke unter sich noch in netzartiger Verbindung.

2. Follikeldifferenzierung.

Bildung und Differenzierung fällt für die Mehrzahl der Follikel in die Zeit des Imaginallebens. Nur für die drei untersten Follikel jeder Ovariole beginnt die Entwicklung noch innerhalb der Puppenruhe. Wie die Entwicklung der Keimzellen erfolgt auch die Follikeldifferenzierung von basal nach apical über lange Zeiträume gestaffelt. Die einzelnen Follikel einer Ovariole folgen sich bis zwei Tage nach dem Schlüpfen der Imago in einem Abstand von ziemlich genau einem halben Tag. Zur Charakterisierung ihrer Entwicklung können die Follikel dem Aussehen nach in 7 verschiedene Gruppen eingeteilt werden (Abb. 5):

ABBILDUNG 5.

	I Initial-follikel	II Rosetten-follikel	III Dotter-höhe 0	IV Dotter-höhe ¼	V Dotter-höhe ½	VI Dotter-höhe ¾	VII Dotter-höhe 1/1
Relative Eikerngrösse $\frac{a/2 \cdot (b/2)^2}{100}$	0,3-0,8	0,8-2,7	3,2-10,5	25,1-51,7*	110-187,2*	250-301,5*	—
Relative Follikel-epithelhöhe	3-5	7-9	9-12	18-25** (0-16)	27-35** (0)	9-20** (0)	0-3

Die verschiedenen Entwicklungsstadien der Follikel.

Eizelle punktiert. * Kerne zerschnitten; ** Werte im Bereich der Eizelle, eingeklammert die Werte im Bereich der Nährzellen. Die jungen Follikelstadien sind im Vergleich zu den älteren zu gross gezeichnet. 1 Masseinheit = 0,43 μ, 23 Masseinheiten = 10 μ. Weitere Erklärung im Text.

I. *Initialfollikel*, unmittelbar nach der Abtrennung vom Germarium. Die Follikelepithelzellen sind spindelförmig. Sie haben sich noch nicht zum kubischen Follikelepithel zusammengeschlossen, sondern liegen mehr oder weniger stark dachziegelartig übereinander. Die Keimzellen sind anscheinend regellos verteilt; immerhin ist die Eizelle stets basal auf dem Grund des Follikels zu finden.

II. *Rosettenfollikel.* Das typische kubische Follikelepithel ist gebildet. Der Follikel ist kugelförmig. Im Schnitt bilden die Keimzellen eine Rosette. Die Eizelle liegt basal zwischen den Nährzellen.

III. *Follikel mit Dotterhöhe O.* Der Ausdruck „Dotterhöhe" wurde von M. VOGT (1940 a) eingeführt und hier übernommen. Diese Follikel stehen zwischen den Rosettenfollikeln und den Follikeln mit morphologisch nachweisbarer Dotterproduktion: die Eizelle enthält noch keine Dotterschollen, und ihr eigentliches Grössenwachstum hat noch nicht begonnen. Sie liegt jedoch schon abgesondert unter- und ausserhalb der Nährzellen am Grund des in die Länge gewachsenen Follikels. Das Follikelepithel ist höher geworden.

IV. *Follikel mit $^1/_4$ Dotterhöhe.* Die mit Dotterschollen angefüllte Eizelle nimmt einen Viertel der Follikelhöhe ein. Die Eizelle ist bereits von einer dünnen Schicht Chorionmaterial umgeben. Auch die Nährzellen sind stark gewachsen. Das Follikelepithel im Bereich der Nährzellen ist in Regression, während es um die Eizelle weiter an Dicke zugenommen hat.

V. *Follikel mit $^1/_2$ Dotterhöhe.* Die Eizelle erfüllt den Follikel zur Hälfte. Das Follikelepithel um die Nährzellen ist zur dünnen Membran reduziert; im Bereich der Eizelle hat es seine maximale Höhe erreicht.

VI. *Follikel mit $^3/_4$ Dotterhöhe.* Die Reduktion des Follikelepithels hat auch um die Eizelle eingesetzt. Die Nährzellen sind stark geschrumpft, und ihre Kerne sind lappig geworden.

VII. *Follikel mit $^1/_1$ Dotterhöhe.* Das Ei mit seinen Filamenten ist gebildet. Die Reduktion des Follikelepithels und der Nährzellen ist vollständig. Der Eikern ist nicht mehr sichtbar. Nach HUETTNER (1924) ist auf diesem Stadium die Kernmembran aufgelöst, und der Eikern befindet sich in der Metaphase der RT I.

Die Stadien I—III werden von den basalsten Follikeln noch innerhalb der Puppenruhe durchlaufen. Dagegen setzt die Dotterbildung erst in den Ovarien der Imagines ein. Während seiner Entwicklung wird der Follikel um ein Vielfaches grösser, doch schwankt die Grösse innerhalb der einzelnen Gruppen je nach Lage und Raumangebot im Ovar sehr erheblich. Es wurde deshalb darauf verzichtet, die Gruppen auch durch die Follikelgrösse zu kennzeichnen, umso mehr, als sie im Schnitt nur ungenau bestimmt werden kann. Ideale Längschnitte sind selten, und zudem ist im dicht gedrängten Ovarverband der Follikel meist gestaucht, so dass ein einwandfreies Messen nicht möglich ist. Besser eignen sich einzelne Follikelbestandteile zur metrischen Charakterisierung, so z.B. die Grösse der Eikerne und die Dicke des Follikelepithels. Die Werte dafür wurden in jeder Gruppe an 10 Follikeln aus 3—5 Ovarien bestimmt. In Abb. 5 sind sowohl für die Eikerngrösse wie auch für die Follikelepitheldicke je der niedrigste und der höchste der pro Gruppe gemessenen Werte eingetragen. Die obere Reihe enthält die Grössenbereiche der Eikerne. Zur Bestimmung der Eikerngrösse wurden analog den Messungen an den Oogonienkernen (s. S. 107) die längste (a) und die kürzeste Achse (b) des Eikernes gemessen und daraus der Inhalt des zugehörigen Rotationsellipsoides (konstantes Glied vernachlässigt) berechnet. Der bessern Übersichtlichkeit wegen enthält die Abbildung die durch 100 dividierten Inhaltswerte.

Wie aus Abb. 5 hervorgeht, nimmt der Eikern im Verlauf der Entwicklung um ein Mehrfaches seiner ursprünglichen Grösse zu. Jeder Follikelgruppe lässt sich eine bestimmte Grössenklasse des Eikerns zuordnen. Bei den untern Gruppen berühren sie sich allerdings, doch kommen nirgends Überschneidungen vor.

Ähnlich verhält es sich mit den Werten der Follikelepithelhöhen (untere Reihe). Die Dicke des Follikelepithels wurde an den Stellen gemessen, wo beim Durchdrehen der Mikrometerschraube keine optische Verlagerung des Epithels erfolgte, dieses also senkrecht durchschnitten worden ist. Auch hier gehört zu jeder Gruppe eine bestimmte Grössenklasse, die sich in keinem Fall mit einer andern überschneidet. Ein deutlicher Unterschied fehlt nur zwischen Gruppe II und III. Hier berühren sich die Extreme. Seine stärkste Ausbildung hat das Follikelepithel in der V. Gruppe erreicht; allerdings nur in der Zone, welche die Eizelle umgibt.

Um die Nährzellen ist das Epithel in diesem Stadium schon vollständig zurückgebildet. Zum Teil ist dieser Zustand sogar schon bei Gruppe IV erreicht (eingeklammerte Werte). In Gruppe VI hat die Rückbildung auch das Epithel um die Eizelle erfasst und in der VII. Gruppe ist das Follikelepithel kaum mehr sichtbar.

Auf diese Grössenverhältnisse innerhalb der Follikel kommen wir in einem spätern Kapitel (s. S. 132 ff.) nochmals zurück.

D. DIE IMAGINALE DIFFERENZIERUNG TOTAL ODER PARTIELL AGAMETISCHER OVARIEN

1. Entfernung der Keimzellen bei verpuppungsreifen Larven.

Bei Ovarien verpuppungsreifer Larven sind gerade die ersten Anzeichen der imaginalen Differenzierung zu erkennen. Mit der Anlage der Terminalfilamente hat die Bildung der Ovariolen von apical her begonnen. Unter der Zone der Filamentanlagen liegen die zum grossen Teil voll herangewachsenen Oogonien frei im Zentrum des Ovars. Basal anschliessend folgt darauf eine Zone mit kleineren, somatischen Zellen (Abb. 1). Auf Grund dieser histologischen Befunde durfte man hoffen, die Keimzellen auf mechanischem Wege aus der weiblichen Gonade entfernen zu können.

Die Ausschaltung der Keimzellen wurde auf verschiedene Arten versucht. Die Experimente lassen sich in zwei Gruppen scheiden. Bei der einen Gruppe erlitten die Ovarien durch die Behandlung (Ausquetschen, Zerreissen, Aussaugen) eine grob mechanische Zerstörung ihres Zellgefüges. Ein Teil des Ovarinhaltes floss aus und es ist anzunehmen, dass eine gewisse Anzahl von Zellen verletzt wurde. Bei der andern Gruppe erfolgte keinerlei äussere Verletzung, da die Sterilisation durch Bestrahlen mit ultraviolettem Licht oder mit Röntgenstrahlen erreicht wurde. Für die erste Gruppe ist anzunehmen, dass neben Zellen, die zerstört wurden oder verloren gingen, ganze Zellgruppen von der Behandlung unberührt blieben. Dagegen waren in den Bestrahlungsexperimenten alle Zellen etwa gleichstark der Strahlenwirkung ausgesetzt. Trotz dieser Verschiedenheit in der Behandlungsart ergaben beide Gruppen qualitativ die gleichen Resultate, so dass diese Experimente gemeinsam dargestellt werden können.

a) *Material und Technik.*

Ausser bei den Röntgenexperimenten erfolgte die Behandlung nach der von Hadorn (1946) eingeführten Technik *in vitro*, an freisezierten Ovarien, mit nachfolgender Implantation in unbehandelte Larven des gleichen Stadiums. Wirt und Spenderlarven stammten aus Massenzuchten. Da nach Bodenstein (1947) die Ernährungsverhältnisse während der Larvenzeit auf die Ovarentwicklung von Einfluss sind, wurde auf gute, gleichmässige Futterbedingungen geachtet. Zweistunden-Gelege von 40—50 Weibchen in flachen Schalen mit 100 ccm Futter (s. S. 95), auf dem während mehreren Tagen im Kühlschrank bei 4—6° C Frischhefe zu einer dicken Schicht wachsen konnte, lieferten durchwegs grosse Larven mit gutentwickeltem Fettkörper. Um sicher zu gehen, entnahmen wir den Schalen nur solange Tiere, als noch Frischhefe auf dem Futter lag.

Als Spenderlarven fanden diejenigen Tiere Verwendung, die an den Schalenwänden emporkrochen. Als Wirte wurden Larven beiderlei Geschlechts benützt, die 96 h nach der Eiablage das Futter noch nicht verlassen hatten. Diese um etwa 20 h jüngern Larven ertragen die Implantation besser als die verpuppungsreifen Tiere. Sie können mit etwas Aether aus dem Futter ausgetrieben werden. Der Altersunterschied von etwa 20 h zwischen Wirt und Implantat ist nach den Untersuchungen von M. Vogt (1942 *a*) für die Weiterentwicklung bedeutungslos, wenn, wie das hier der Fall ist, der Spender der ältere ist. In jeden Wirt wurde nur ein Ovar implantiert. Die Sektion der Wirtstiere erfolgte 2—5 Tage nach dem Schlüpfen aus der Puppe, d.h. zu einer Zeit, da normale Gonaden bereits reife Eier enthalten. Die Eiablage beginnt bei „Berlin-Inzucht“ 2 Tage nach dem Schlüpfen der Imago.

Zur Erleichterung der mechanischen Behandlung wurden die mit einem kleinen Stück des umgebenden Fettkörpers isolierten Ovarien in einem Tropfen Holtfreter gewöhnlicher Konzentration zum Quellen gebracht. Eine kurze Quellung in diesem Umfange beeinträchtigt, wie zahlreiche Transplantationsexperimente zeigten, die Normalentwicklung des Ovars nicht. Daraufhin erfolgte die Zerstörung wie folgt: 1. Das Ovar wurde mit einer Präpariernadel am Fettkörper festgehalten und bei 30-facher Vergrösserung unter der Binocularlupe mit einer zweiten Präpariernadel angestochen und gequetscht, bis die Turgeszenz des Ovars verschwunden war. Die ausgeflossenen Ovarien wurden daraufhin implantiert. 2. Weniger Zeit erforderte eine zweite Methode, bei der das isolierte Ovar unmittelbar vor der Implantation in eine sehr enge Implantationsnadel (70 μ) kräftig eingesogen und wieder ausgestossen wurde. Das Ovar wurde dabei auseinandergerissen und der Inhalt zum grossen Teil herausgedrückt. Anschliessend konnte es sofort mit der selben Nadel implantiert werden. Auf beide Arten gelang es, den gewünschten Effekt zu erreichen. Es wirkte sich aber in beiden Fällen auf die Reorganisation des Organes nachteilig aus, dass die Ovarhülle dabei stark zerriss. Um diese möglichst zu schonen, wurden in einer dritten

Versuchsserie die Ovarien punktiert. Die wiederum mit einer Präpariernadel am Fettkörper festgehaltenen Ovarien wurden mit einer Transplantationsnadel ohne Einschnürung von 20—30 μ Dicke angestochen. Am Halter der Nadel war ein Gummischlauch befestigt, durch den die Ovarien mit dem Mund ausgesogen werden konnten. Diese Anordnung lieferte die schönsten Resultate. — In allen drei Fällen wurde darauf geachtet, dass die Ovarien im verletzten Zustand nicht länger als 10 Minuten im Holtfreter verblieben und dass von der Sektion bis zur Implantation nicht mehr als 1 h verstrich.

Bei der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht lagen die isolierten Ovarien auf einem hohlgeschliffenen Objektträger in einem grossen flachen Tropfen doppelt konzentrierter (ca isotonischer) Holtfreterlösung. Um die Versuchsanordnung von der Absorption der Strahlung durch die Alkalimetallionen der Lösung möglichst unabhängig zu machen, wurden die Ovarien an die Oberfläche des Tropfens gebracht, wo sie dank der Oberflächenspannung haften blieben. Als Lichtquelle diente eine Höhensonne Marke Hanau mit Emmissionsmaximum bei 360 mμ. Wirksam waren Expositionen von 2½ und 3′ Dauer im Abstand von 32 cm nach halbstündigem Vorheizen der Lampe. Implantiert wurde unmittelbar anschliessend bis höchstens 10′ nach der Bestrahlung. Auch hier wurde darauf geachtet, dass der ganze Vorgang nicht mehr als 1 h beanspruchte.

Die Röntgenbestrahlung erfolgte im Gegensatz zu den anderen Behandlungen *in situ*. Die genaue Beschreibung der Versuchsanordnung wird im nächsten Kapitel im Zusammenhang mit den weiteren Röntgen-

Tabelle 2.

Experiment	Anzahl 4—5 Tg alter Wirtsimagines (mit je 1 Implantat)	Anzahl der gefundenen Implantate	Anzahl der reduzierten Implantate
mechanisch . .	128	33	23
UV	31	15	13
Röntgen	Anzahl der 2 Tg alten Imagines	Anzahl der gefundenen Ovarien	Anzahl der reduzierten Ovarien
	25	41	27
Total	184	89	63

Übersicht über die Erfolgsquoten bei den verschiedenen Larven-Experimenten.

(Für die Röntgenexperimente vergl. auch Tab. 3, S. 149.)

experimenten gegeben. Hier soll nur erwähnt sein, dass die narkotisierten Larven mit 4500 r im hintern Körperdrittel bestrahlt wurden.

Sowohl bei UV- wie bei Röntgenbestrahlung wurde die Dosis nach oben durch die Empfindlichkeit des somatischen Gewebes, das nicht geschädigt werden durfte, begrenzt. Die Röntgendosis hatte sich ausserdem nach der Sensibilität der Larvenepidermis zu richten. Epidermisschäden brachten den grössten Ausfall an Imagines.

Eine Übersicht über die Ausbeute der verschiedenen Experimente gibt Tab. 2. Von den mechanisch zerstörten Implantaten wurden nur rund ¼ wiedergefunden, was nur zu einem geringen Teil auf Operations-

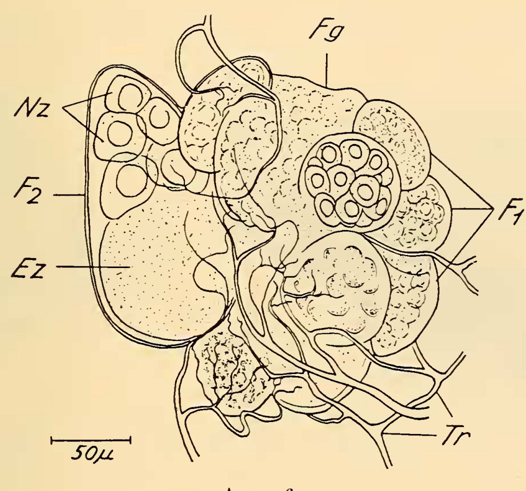


Abb. 6.

Stark geschädigtes Ovarimplantat (ausgesogen) aus einer 4—5 Tage alten Wirtsimago. F_1 Follikel mit jungen Keimzellen; F_2 reifender Follikel mit Nährzellen (Nz) und Dotterablagerung in der Eizelle (Ez); Fg Fettgewebe; Tr Tracheen.

fehlern beruhen kann. Es muss angenommen werden, dass sich viele der zerstörten Ovarien nicht mehr reorganisieren konnten und so im Wirt aufgelöst wurden. Etwas günstigere Verhältnisse zeigen die UV-Experimente, wo 50% der Implantate sich entwickelten. Selbst bei den *in situ* mit Röntgen bestrahlten Ovarien gab es Ausfälle. Drei der bestrahlen Weibchen wurden ohne Ovarien gefunden und bei drei weiteren war nur je ein Ovar entwickelt.

b) *Äussere Entwicklungsleistung.*

Bei der Sektion der 2—5 Tage alten Wirtsfliegen findet man die Implantate hauptsächlich in Form eines pulsierenden Konglomerates kleinerer und grösserer Bläschen, in denen z.T. Keimzellen und Dotterablagerungen zu erkennen sind (Abb. 6). Merkwürdigerweise mischen

sich unter diese Bläschen aber auch solche, die Fettzellen enthalten (Fg). Ein reiches Tracheengeflecht (Tr) umspinnt und durchsetzt die Implantate. Je nach Grad der Schädigung können den Bläschen auch ein bis mehrere reife Eier anliegen.

Es gibt jedoch auch Ovarien, die sich besser reorganisieren konnten und eine äusserlich geschlossene Organform heranbildeten. Einige davon unterscheiden sich äusserlich von gleichalterigen, normalen Ovarien nur durch die geringere Anzahl der Ovariolen mit reifen Eiern und durch das gehäufte Vorkommen von invers und quer gelagerten Eiern, sowie durch teilweise abnorme Eiformen (Abb. 7). Soweit diese Implantate nicht bis



Abb. 7.

Schwach geschädigtes Ovar (Röntgen). K Kugelei; Q Ei in Querlage. Mikrophoto. Vergr. ca 50 ×.

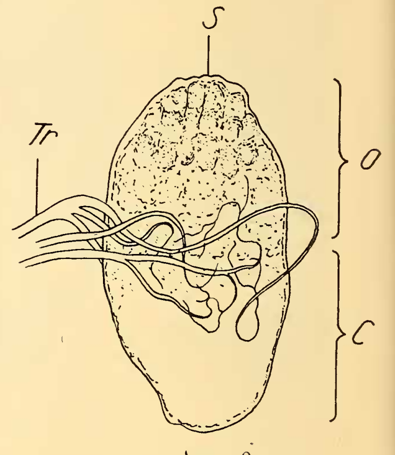


Abb. 8.

Stark geschädigtes Ovar ohne Dotterbildung. C Calyx; O Ovar; S Ovarspitze; Tr Tracheengürtel. Vergr. s. Abb. 6.

zur Eibildung kamen, sind ovoide oder kugelige Gebilde entstanden, die im besten Fall den Ovarien frisch geschlüpfter Weibchen gleichen (Abb. 8). Sie lassen jedoch unter der Binokularlupe nicht deren regelmässig nebeneinandergereihten, perlschnurartigen Ovariolen erkennen, sondern zeigen eine ungeordnete, schaumig blasige Beschaffenheit des Innern. Nur an der Spitze ist manchmal eine gewisse Längsgliederung zu sehen (Abb. 8, S). Tracheen sind hier ebenfalls reichlich vorhanden und bilden mehr oder weniger deutlich den für normale junge Ovarien charakteristischen Gürtel um die Gonade. Dieser entsteht dadurch, dass die meisten Tracheen an der Grenzlinie zwischen Calyx und Ovarstroma ins Gewebe eintreten (Abb. 8, Tr). Entsprechende Entwicklungsleistungen von Ovarien hatte Hadorn (1946) nach Behandlung mit Colchicin erhalten.

Die Implantate sind durchwegs viel kleiner als normale Ovarien des gleichen Alters. Das erklärt sich leicht aus der geringern Anzahl der gebildeten Eier und (bei den mechanisch zerstörten Ovarien) durch den Substanzverlust bei der Behandlung. Mindestens bei den mit Röntgen bestrahlten Ovarien muss daneben aber noch eine allgemeinere Wachstumsstörung mitspielen. Dies kann aus der Gegenüberstellung normaler und bestrahlter Ovarien in Abb. 9 ersehen werden. Die obere Reihe der Abbildung enthält die Umrisse von vier spätlarval mit Röntgen bestrahlten Ovarien, in denen Dotterablagerungen unterblieben sind. Die

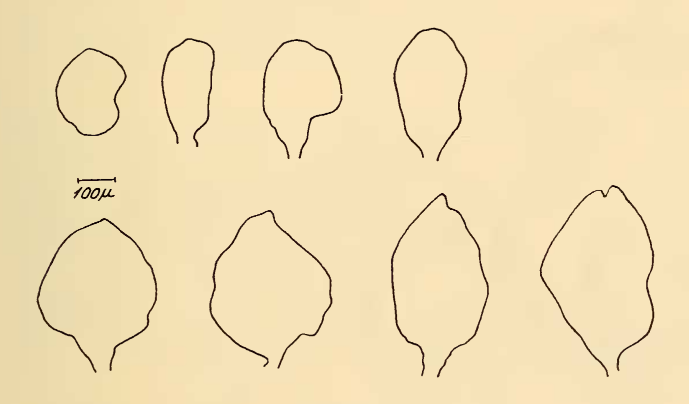


Abb. 9.

Grössenverhältnisse von normalen und bestrahlten Ovarien. Obere Reihe: Röntgenovarien ohne Dotterbildung. Untere Reihe: normale Ovarien frisch geschlüpfter Weibchen vor der Dotterbildung.

untere Reihe zeigt Umrisse von Normalovarien frisch geschlüpfter Weibchen, deren Gonaden auf diesem Stadium ebenfalls noch dotterfrei sind. Zwischen den Ovarien der beiden Reihen besteht ein ganz beträchtlicher Grössenunterschied, der weder auf Gewebsverlust noch auf mangelnde Dotterproduktion zurückgeführt werden kann. Es muss vielmehr eine umfassendere Wachstumshemmung der behandelten Ovarien angenommen werden.

Interessant sind drei Fälle, bei denen sich vom Implantat nur je eine einzige isolierte Ovariole entwickelt hat. Die eine davon (Abb. 10) enthält drei dem Anschein nach normal proportionierte reife Eier (E). Weitere sind in Bildung begriffen (r.F). Die Isolierung scheint völlig ohne Einfluss auf die Entwicklung der Ovariolen geblieben zu sein. Dieser Befund verrät eine weitgehende Unabhängigkeit der Ovariolendifferenzierung vom Ovarganzen.

In den weiblichen Wirten fanden viele Implantate die Verbindung mit den Ovidukten. Andere wurden durch ihre Tracheen am Wirtsovar oder an einer beliebigen Stelle des Geschlechtstraktes oder des Darmes festgeheftet. In einem Tier wurde ein Ovar mit zwei Spitzen gefunden, das wahrscheinlich durch Verschmelzen des Implantates mit einem der Wirtsovarien entstanden ist. Seltener waren die Ovarien einfach mit der Körperwand verbunden. Kein einziges Ovar wurde in der vorderen Hälfte des Abdomens oder gar im Thorax angetroffen.

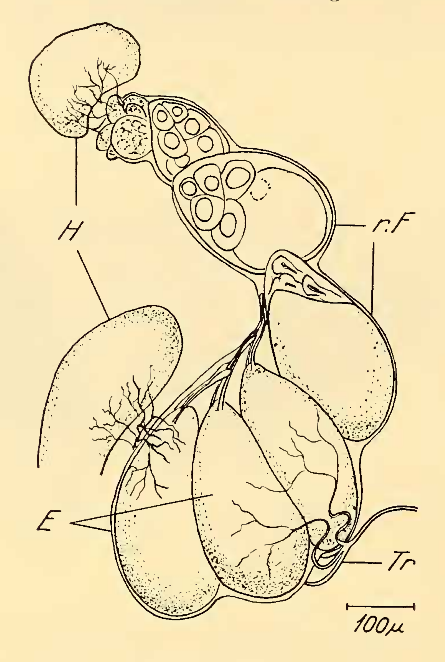


Abb. 10.
Isoliert aufgewachsene Ovariole eines mechanisch zerstörten Ovars aus einem männlichen Wirt. E Eier; r.F reifende Follikel; H Hoden; Tr Tracheen.

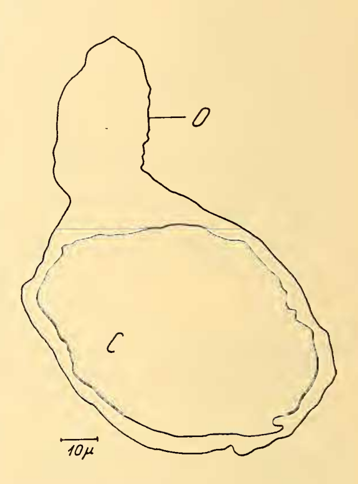


Abb. 11.
Agametisches Ovar. Übersichtszeichnung. C Calyx; O Ovarkörper. Längsschnitt.

In den männlichen Wirten lagen ähnliche Verhältnisse vor. Die meisten Implantate standen in mehr oder weniger engem Kontakt mit den Hoden. Dies blieb in vielen Fällen nicht ohne Einfluss auf die Ausbildung der männlichen Gonade. Zwei Implantate waren z.B. mit ihren Tracheen an Hoden angeheftet, die nicht spiralisiert waren, obwohl sie mit den *Vasa deferentia* verwachsen waren. Der eine Hoden, der selbst atrophisch ist, trug ein sehr grosses Ovar, so dass man an eine rein mechanische Behinderung der Spiralisierung denken könnte, nur ist diese normalerweise schon beendet, bevor die starke Grössenzunahme des Ovars einsetzt (Stern 1941). Der andere Hoden, dick keulig aufge-

trieben, trug nur ein sehr kleines, stark reduziertes Ovar. Ein weiteres Implantat sass unmittelbar am Übergang vom Vas deferens zum angehefteten Hoden, der zwar spiralisiert, aber ebenfalls zur dicken Keule aufgetrieben war. In einem andern Fall verblieb das ziemlich stark reduzierte Ovar frei in der Körperhöhle. Es verbanden sich aber trotzdem nicht beide Hoden mit den Vasa, sondern der eine, sehr klein gebliebene, war mit der Basis des Implantates verbunden. Abb. 10 stellt einen ähnlichen Fall dar, nur dass hier die Verbindung locker blieb, während es sich dort um ein eigentliches Verwachsen handelt. Es scheinen auch zwischen Hoden und Ovar Affinitäten zu bestehen, die unter Umständen sogar stärker als die Affinität Hoden-Vas deferens sein können. Erwähnenswert ist noch der Fall, bei dem statt des Hodens das Ovar mit dem Vas verwachsen ist und der verdrängte Hoden dem Ovar lose aufsitzt.

Sowohl in männlichen wie in weiblichen Wirten trugen viele der Implantate auf ihrer Oberfläche kräftige gelbe Flecken. Es handelt sich dabei um Hodenpigment, wie es Hadorn (1946) bei Colchicin-geschädigten Ovarien, Niggli (1947) nach Behandlung mit Kaliumpermanganat und Hadorn und Bertani (1948) durch Induktion bei unverletzten Ovarimplantaten gefunden haben. In den Röntgenexperimenten waren auf etwa $^1/_3$, in den UV-Experimenten auf etwa $^1/_5$ der Ovarien solche Hodenpigmentflecken vorhanden. Bei den mechanisch zerstörten Ovarien traten sie spärlicher auf. Anderer Art ist dagegen die diffuse hellgelbe Färbung, wie sie der Inhalt einzelner der Keim- oder Fettzellen enthaltenden Bläschen aufwies. Auch von den reifen Eiern waren einzelne gelblich. Die diffuse hellgelbe Färbung ist wohl ein Anzeichen für Zersetzungserscheinungen. Auch in Normalovarien werden gelbe Eier angetroffen, wenn aus irgend einem Grund die Eiablage behindert war.

c) *Histologie.*

α) *Total agametische Ovarien.*

Im Ganzen konnte mit den drei verschiedenen Behandlungsarten bei 63 Ovarien eine Reduktion erzielt werden (s. Tab. 2). Unter ihnen ist aber nur bei dreien der mechanisch zerstörten Ovarien die vollständige Entfernung der Keimzellen erreicht worden. Alle andern behandelten Ovarien enthalten noch eine wechselnde Zahl mehr oder weniger weit entwickelter Keimzellen. Mit UV- und Röntgenbestrahlung ist zwar an und für sich die vollständige Vernichtung der Keimzellen leicht zu erreichen; nur sind die dazu nötigen Dosen so stark, dass auch das somatische Gewebe erheblich leidet. Dieses musste für unsere Zwecke jedoch intakt bleiben. Zweifellos wären bei einem grösseren Material auch mit den ver-

wendeten schwachen Dosen eine gewisse Zahl agametischer Ovarien entstanden, so dass einheitliche Serien aus allen drei Experimenten

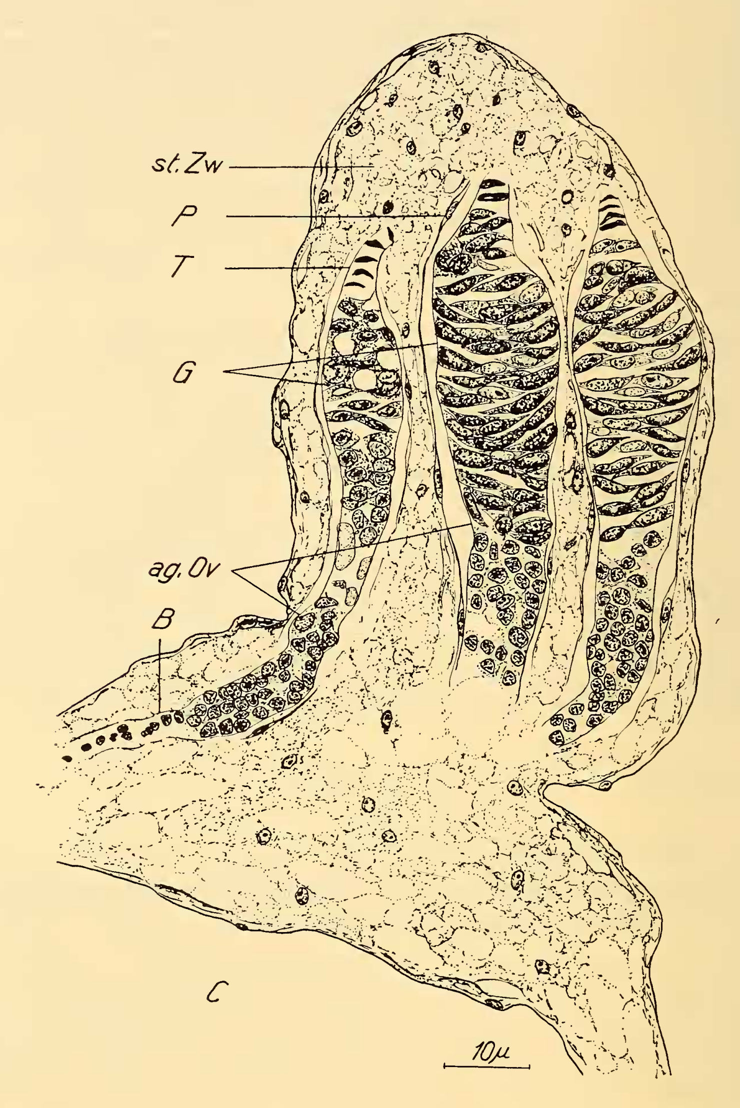


ABB. 12.

Drei agametische Ovariolen aus dem Ovar der Abb. 11. ag.Ov agametische Ovariolen; B Basisstiel; C Calyx; G Germarium; P Peritonealhülle; st.Zw steriles Zwischengewebe; T Terminalfilament. Die agametische Ovariole links liegt mit der ganzen Länge im Schnitt, bei den 2 Ovariolen rechts folgen das basale und apicale Ende im Nachbarschnitt. Längsschnitt.

hätten verglichen werden können. Da daraus jedoch, wie später gezeigt wird (s. S. 132), keine neuen Gesichtspunkte zu erwarten waren, wurde das Versuchsmaterial nicht weiter vermehrt.

Die drei keimzellosen Ovarien zeigen alle den gleichen Bau. Auf einen kompakten Teil, der von lockerem, faserigem Gewebe — dem Ovarstroma — gebildet wird, folgt ein verschieden deutlich ausgebildeter Hohlraum, der Calyx. Besonders schön ist dies in Abb. 11 zu sehen, wo an den eigentlichen Ovarkörper (O) eine um ein mehrfaches grössere Calyxblase (C) anschliesst. Wegen der abnormen Kleinheit des Gonadenkörpers erscheint hier der Calyx überdimensioniert; in Wirklichkeit hat er annähernd normale Ausmasse. Im Stroma eingebettet liegen ziemlich kompakte, im Querschnitt runde Stränge von Zellen, deren Kerne sich mit Hämalaun viel stärker färben als die des umgebenden Gewebes (Abb. 12, ag.Ov). Jeder Strang ist von einer kernhaltigen Membran (P) umgeben. Diese Zellstränge haben nicht in allen drei Ovarien genau das gleiche Aussehen. In zwei Ovarien, darunter dem Ovar von Abb. 12, werden sie von einer grossen Zahl kleiner Zellen gebildet; besonders klein sind sie im basalen, gegen den Calyx gerichteten Abschnitt, wo die Zellen sehr eng gedrängt liegen. Die Kerne haben hier eine eckig-kugelige Form und färben sich sehr stark mit Hämalaun. Im anschliessenden, bauchig erweiterten Teil sind die Zellen und ihre Kerne etwas grösser und mehr spindelförmig. Die Kernfärbung ist hier blasser. Die Zellen erscheinen nur noch in der Aufsicht eng aneinanderliegend, gegen das Stranginnere weichen sie auseinander. Ein richtiges, durchgehendes Lumen ist jedoch nicht vorhanden, sodass keine eigentliche Schlauchbildung vorliegt. Die Stränge endigen beidseits in einem einreihigen Zellfaden. Der basale (B) von ihnen ist sehr dünn. Er wird von wenigen, sehr kleinen und dunkel gefärbten Zellen gebildet, die den Zellen der untern Stranghälfte gleichen, nur sind sie noch bedeutend kleiner als diese. Den breiteren, apicalen Zellfaden (T) bilden flache, scheibenförmige Zellen, deren Kerne pyknotisch erscheinen. Die geschrumpften Kerne liegen hier als parallele dunkle Bänder je in der Mitte der sonst hyalinen Zellen.

Im dritten agametischen Ovar sehen die Zellstränge etwas anders aus (Abb. 13). Sie werden von weniger, aber besonders in der oberen Hälfte viel grösseren Zellen gebildet, die lückenlos aneinanderliegen. Ihre elliptischen, blassen Kerne enthalten einige

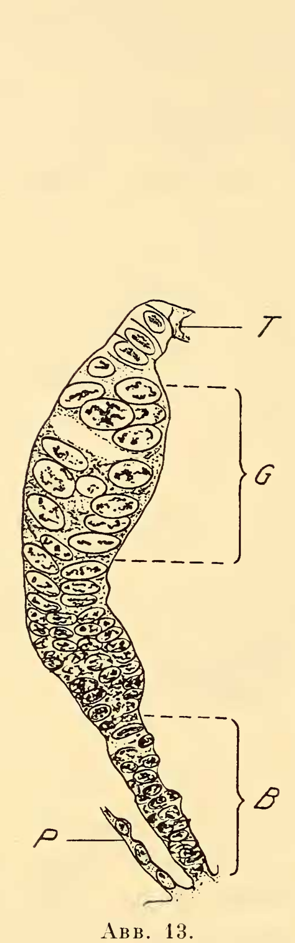


Abb. 13.
Jüngere agametische Ovariole.
B Basalstiel; G Germarium; P Peritonealhülle; T Terminalfilament.
Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 12.

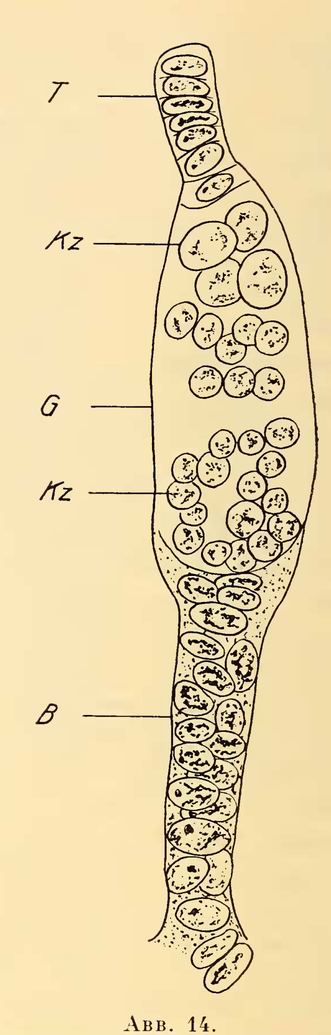


Abb. 14.
Normale Ovariole aus einem Puppen-Ovar im Alter von 2 Tagen nach der Pupariumbildung. Bezeichnung wie in Abb. 13. Kz Keimzellen.
Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 12.

Chromatinbrocken und sind so gross, dass sie beinahe den ganzen Zellraum ausfüllen und sich gegenseitig zu berühren scheinen. Gegen basal hin werden die Zellen sukzessive kleiner. Im untersten Drittel des Stranges (B) sind Zell- und Kernstrukturen unklar;

wahrscheinlich sind die Zellen hier in Auflösung begriffen. Ein einreihiges Filament ist nur apical ausgebildet (T). Es ist wesentlich breiter als in den zwei anderen Ovarien, sonst aber entsprechend gebaut. Die Kerne zeigen auch hier pyknotische Veränderungen, die aber weniger weit fortgeschritten sind. Die Kerne sind flach elliptisch und bis auf ein undeutliches Chromatinband optisch leer.

Die Ähnlichkeit der beschriebenen Zellstränge mit den jungen, noch ungeteilten Ovariolen von Puppenovarien ist unverkennbar. Im Besondern kann über die Natur der apicalen Zellreihe kein Zweifel bestehen. Ihrem Aussehen nach können es nur Endfilamente von Ovariolen sein. Auch die übrigen Abschnitte der Stränge können leicht mit Abschnitten normaler Ovariolen homologisiert werden. In Abb. 12 zeigen die Andeutung einer Epithel- und Lumenbildung durch die besondere Stellung der Zellen im oberen Teil der Stränge, sowie die spindelförmige Zellgestalt (vergleiche die Zellen dieses Teiles mit den Epithelialzellen des oberen Germariums in Abb. 15) die Übereinstimmung des bauchigen Strangstückes mit dem Germarium normaler Ovariolen. Auch der Zellstrang von Abb. 13 ist in der oberen Hälfte (G) keulig erweitert. Die apicalen Zellen entsprechen hier in Ausbildung und Grösse genau den Epithelialzellen von normalen Ovariolen eines bestimmten Stadiums, wie ein Vergleich mit Abb. 14 zeigt. In beiden Fällen stellen also die Zellstränge eine Form von „t a u b e n“ O v a r i o l e n dar. Ihre unterschiedliche Ausbildung ist nur durch ihren ungleichen Entwicklungsgrad bedingt: Endfilamente von derselbe Breite und mit leicht pyknotischen Zellkernen wie jene von Abb. 13 finden wir im Normalfall bei Ovariolen im Alter von etwas mehr als 2 Tg.n.P. Sie entsprechen einem um ein Geringes älteren Entwicklungsstand, als in Abb. 14 dargestellt ist, wo erst vereinzelte Zellen des Terminalfilamentes Anzeichen beginnender Pyknose erkennen lassen. Dagegen sind die ganz schmalen Filamente mit vollständig geschrumpften Zellkernen, wie sie Abb. 12 zeigt, erst an Ovariolen schlüpfreifer Imagines zu finden. Mit den zwei verschiedenen Ausbildungsgraden der Endfilamente bei den tauben Ovariolen von Abb. 12 und 13 stimmt auch die Ausbildung der zugehörigen Basen überein. Zwischen 2 und 2½ Tg.n.P. beginnt im Normalovar die Reduktion des bis dahin grossen, säulenartigen Basisstieles, wie er noch in Abb. 14 zu sehen ist. Schon 2½ Tg.n.P. ist er zu einem einreihigen Zellstiel geworden (Abb. 2 f). 3 Tg.n.P.

sind vom Basisstiel nur noch wenige kleine, sich dicht färbende Zellen übrig geblieben. Diese Entwicklung spiegelt sich an den tauben Ovariolen wider. Die Stränge mit den breiten Filamenten etwas mehr als 2 Tg alter Puppen (Abb. 13) enden basal in einem verjüngten Abschnitt sich auflösender Zellen (B). Dieser Strang abschnitt, der in der Art der Basisstiele mit dem Grundgewebe des Ovars in Verbindung steht, kann nur der Basisstiel der tauben Ovariole sein, der sich hier in Reduktion befindet. Ebenso entspricht der wenigzellige basale Faden in Abb. 12 ganz dem Aussehen der Basisstiele in einem drei- oder mehrtägigen Puppenovar. Es kann also auf Grund der Ausbildung von Endfilament und Basisstiel der Entwicklungsgrad der drei keimzellosen Ovarien bestimmt werden. Die vier Tage nach dem Schlüpfen der Imagines fixierten agametischen Ovarien haben die Stufe von 2-tägigen Puppenovarien bzw. von Ovarien schlüpfender Imagines erreicht. Mit diesem Befund stimmen auch der Zustand der Peritonealhüllen um die Ovariolen und die Calyxgrössen überein.

Normale Ovarien schlüpfender Weibchen unterscheiden sich jedoch in einem wesentlichen Punkt von den zwei älteren agametischen Ovarien: sie enthalten im Gegensatz zu diesen Follikel. Zwischen 2 und 2½ Tg.n.P. beginnt die Abschnürung des ersten Follikels von der bis dahin ungeteilten Ovariole (Abb. 2); 3 Tg.n.P. sind bereits die zwei untersten Follikel fertig abgeschnürt. Parallel mit der Follikelbildung geht die Vermehrung der Epithelialzellen in diesem Bereich vor sich. Zur Zeit, da das kubische Follikelepithel gebildet wird, sind nämlich Mitosen der somatischen Ovarzellen häufig, während vor und nachher solche Mitosen nur spärlich angetroffen werden. Von diesen beiden Vorgängen hat in den agametischen Ovarien offenbar nur der eine, die Zellvermehrung, stattgefunden; die Follikelbildung selber aber ist unterblieben. Schon bei den jüngeren der agametischen Ovariolen deutet die unterhalb des keulig erweiterten Abschnittes (Abb. 13, G) rasch abnehmende Grösse der Epithelialzellen auf eine Vermehrung der Zellen hin. Sicher aber haben die älteren agametischen Ovariolen (Abb. 12) eine Vermehrungsphase der Epithelialzellen hinter sich, anders ist die viel grössere Anzahl und

die Kleinheit der Zellen gegenüber jenen der jüngeren Ovariolen nicht zu erklären. Höchst wahrscheinlich entspricht also der untere Abschnitt der Zellstränge mit den enggepackten, kleinen polyedrischen Zellen demjenigen Ovariolenabschnitt, der eigentlich in Follikel unterteilt sein sollte, während nur der obere, in Übereinstimmung mit Form und Stellung der Zellen, das Germarium vertritt. Ebenso ist bei der Ovariole von Abb. 13 nur der grosszellige, breitere Abschnitt (G) dem Germarium gleichzusetzen, während die anschliessende Übergangszone zum Basisstiel (B) mit den kleineren, aber zahlreichen Zellen den Ansatz zur Bildung der ersten Basalfollikel zeigen sollte (s. Abb. 2 e).

Die genaue Analyse der agametischen Ovariolen zeigte, dass diese nur beschränkt mit den noch ungeteilten, normalen Puppenovariolen übereinstimmen, indem ihre Zellen sich in imaginaler Richtung doch erheblich weiter entwickeln. Für die Zellen des Basisstieles und des Terminalfilamentes kann sogar angenommen werden, dass die imaginale Differenzierung vollendet wird. Damit würden einzig bei den Epithelialzellen i.e.S. Schritte in der imaginalen Entwicklung ausfallen, nämlich die Abtrennung der Follikel und die nachfolgende Ausbildung des kubischen Follikelepithels mit seinen verschiedenen Funktionsstufen.

Im Gegensatz zu dieser nur bedingten Übereinstimmung steht die vollständige Identität unserer agametischen Ovariolen mit den von Geigy (1931) beschriebenen „cordons cellulaires" primär agametischer Ovarien. Geigy hatte durch Bestrahlen der Eier von *Dros. mel.* mit UV die Urkeimzellen v o r ihrer Einwanderung in die somatische Gonadenanlage abgetötet. Diese Gonadenanlagen, die nie mit Keimzellen in Berührung gekommen waren, entwickelten sich zu sexuell differenzierten Gonaden. In den weiblichen — primär — agametischen Gonaden fand Geigy Strukturen („cordons cellulaires"), deren Beschreibung und deren Abbildungen in allen Teilen mit denen unserer agametischen Ovariolen übereinstimmen und die auch von Geigy als „équivalent des tubes ovariques des ovaires de la période nymphale" angesehen werden. Geigy diskutiert den Entwicklungsstand der „cordons cellulaires" nicht näher. Er erwähnt nur, dass sie sich durch ihre grössere Länge und durch die entsprechend höhere Zellzahl von den nymphalen Ovariolensträngen unterscheiden. Nach der Abbildung zu schliessen (Geigy 1931, Pl. 13 C) haben die „cordons cellulaires" jedoch genau

wie die agametischen Ovariolen des ausgesogenen Ovars in Abb. 12 eine weit über das Stadium der ungeteilten Ovariolen hinausgehende imaginale Differenzierung durchgemacht. Die Terminalfilamente sind schmal, an den verbreiterten Teil (renflement) schliesst ein langer Abschnitt sehr kleiner Epithelialzellen an. Basisstiele sind keine abgebildet; sie sind offenbar schon vollständig reduziert. Das im Alter von 3 Tg nach dem Schlüpfen der Imago fixierte Ovar aus dem Experiment GEIGY's hat danach die gleiche Entwicklungshöhe wie das nur wenig später fixierte Ovar von Abb. 12 erreicht. — ABOIM (1945), der das Experiment von GEIGY wiederholt und die Identität der GEIGY'schen „cordons cellulaires" mit den Ovariolen sichergestellt hat, fixierte spätestens nach 3 und 4 Tg Puppenruhe (Dauer der Puppenzeit 4½ Tg). Er erhielt dementsprechend weniger weit entwickelte Ovariolen, wie aus Fig. 35 und 36 seiner Darstellung hervorgeht. Nach Angabe des Autors sollen zwar die agametischen Ovarien 4 Tg alter Puppen und 2—3 Tg alter Imagines vollständig übereinstimmen. Fig. 36 (4 Tg alte Puppe) zeigt aber deutlich die geringere Entwicklungshöhe dieser agametischen Ovariole gegenüber denen von GEIGY. Der in ABOIM, Fig. 35 abgebildete Strang aus einer 3 Tg alten Puppe stimmt sehr gut mit dem Strang des zerdrückten Ovars in Abb. 13 überein.

Der Vergleich aller hier erwähnten Abbildungen zeigt deutlich, dass sich in den spätlarval sterilisierten Ovarien die gleichen Entwicklungsvorgänge abgespielt haben wie in den von allem Anfang an agametischen Ovarien. Jedenfalls kann in den erst larval agametisch gewordenen Ovarien keinerlei weitergehende Differenzierung der Ovariolen-Stränge festgestellt werden. Auf die Folgerungen, die aus diesem Parallelbefund gezogen werden müssen, soll nachfolgend in der Diskussion näher eingegangen werden (S. 144).

β) *Partiell agametische Ovarien.*

Die Ausbildung der 60 Ovarien, die noch Keimzellen in mehr oder weniger reduzierter Zahl enthalten, ist sehr vielfältig und hängt weitgehend von der Anzahl und dem Entwicklungsgrad der übriggebliebenen Keimzellen ab. Je mehr Keimzellen vorhanden und

je weiter diese entwickelt sind, umso mehr nähert sich die Struktur derjenigen eines Normalovars. Einige der behandelten Ovarien unterscheiden sich von normalen Ovarien nur durch die geringere Anzahl der Ovariolen. Sie enthalten normal proportionierte, reife Eier und heranwachsende Follikel, an denen keinerlei Besonderheiten auffallen. Das interstitielle Gewebe und das Basisgewebe sind vollständig verschwunden, wie es dem Sektionsalter des Implantates entspricht. Die Behandlung führte hier nur zu einer Verringerung der Elemente. Dieses Resultat kann sowohl durch Verlust eines ganzen Ovarsektors bei der Zerstörung wie auch durch Resorption geschädigter Teile während der nachfolgenden Entwicklung zustandegekommen sein.

In der Mehrzahl der Fälle aber zeigen die behandelten Ovarien deutliche Spuren der Schädigung (Abb. 15). Die regelmässige Anordnung und die synchrone Entwicklung der Ovariolen sind gestört. Neben Ovariolen mit reifen Eiern in den basalen Follikeln können in der Entwicklung zurückgebliebene Ovariolen liegen, die nur kleine, dotterlose Follikel enthalten. Als Folge solch starker Entwicklungsunterschiede sind Formverzerrungen und Verlagerungen in den behandelten Ovarien entstanden. Die normalerweise nahezu gerade und parallel verlaufenden Ovariolen sind gewunden und verschieden orientiert (Abb. 15, links). In der Entwicklung zurückgebliebene Follikel, die reifenden Eiern in Nachbarovariolen anliegen, sind stark in die Länge überdehnt. Eier liegen häufig quer oder invers. — Die Rückbildung des interstitiellen Gewebes und des Basisgewebes kann in ein und demselben Ovar sehr verschieden weit fortgeschritten sein. Ovarpartien von mehr oder weniger normaler Struktur, d.i. mit weit entwickelten Ovariolen und ohne Zwischengewebe (Abb. 15, rechte Bildhälfte) wechseln ab mit mehr oder weniger agametischen Arealen, die in der Hauptsache von interstitiellem und basalem Gewebe gebildet werden (Abb. 15, linke Bildhälfte). Da das somatische Grundgewebe ausschliesslich dort erhalten geblieben ist, wo die Ovariolen nur einen niederen Entwicklungsstand erreicht haben, muss angenommen werden, dass die R ü c k b i l d u n g d e s G r u n d g e w e b e s i n d i r e k t e m Z u s a m m e n h a n g m i t d e r O v a r i o l e n e n t w i c k l u n g erfolgt. — In extremen Fällen wird durch die ungleiche Auswirkung der Behandlung die dem Ovar eigene Struktur vollständig verwischt.

Die *Keimzellen*, welche die Behandlung überstanden haben, sind, wie das schon aus dem Bisherigen hervorgeht, in der Entwicklung sehr verschieden weit gekommen. In den basalen Follikeln,

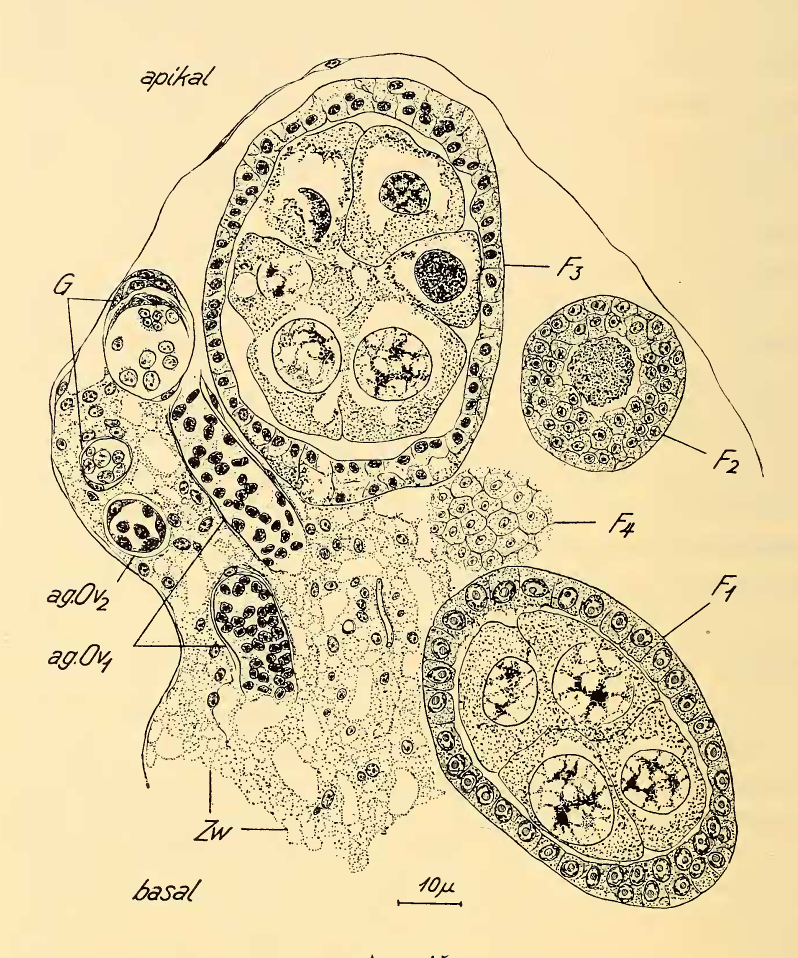


Abb. 15.

Partiell agametisches Ovar. Rechts ± normal entwickelte Ovarpartie mit älteren Follikeln, ohne Zwischengewebe. Links Ovarpartie mit Ovariolen, die in der Entwicklung zurückgeblieben sind, agametischen Ovariolen und erhaltenem Zwischengewebe. ag.Ov_1 Längsanschnitt von agametischen Ovariolen; ag.Ov_2 Querschnitt einer agametischen Ovariole; F_1 normaler Follikel, Beginn der Dottersynthese; F_2 Anschnitt eines Follikels; F_3 Follikel mit 2 normal aussehenden Nährzellen (basal) neben solchen mit pyknotischen Kernen (apical); F_4 Calotte eines angeschnittenen Follikels; G normale Germarien mit Oogonien, quer; Zw Zwischengewebe. Längsschnitt, etwas schief zur Längsachse des Ovars getroffen.

die — dem Alter der behandelten Ovarien bei der Sektion entsprechend — reife Eier enthalten sollten, kommen Keimzellen aller Stadien einschliesslich frisch entstandener Oocyten I (Grössenklasse I, S. 106) vor.

Die vorhandenen *Follikel* scheinen im allgemeinen typisch ausgebildet zu sein. Doch finden wir auch viele Follikel mit pyknotischen Kernveränderungen in den Keimzellen und — seltener — in den Follikelepithelzellen (Abb. 15, F_3). Starke pyknotische Kernveränderungen sind bei den Keimzellen z.T. von einem scholligen Zerfall der Zellen begleitet. Im Follikelepithel haben Zellen mit pyknotisch verdichtetem Kern meist vakuolisiertes Plasma (Abb. 15, F_3). Von den 16 Keimzellen eines Follikels können alle etwa gleichstark von der Degeneration betroffen sein; häufiger aber enthalten die Follikel Keimzellen mit verschieden weit veränderten Kernen, worunter sich meistens auch solche von normalem Aussehen befinden. So enthält z.B. F_3 in Abb. 15 neben 11 Nährzellen mit ± abgekugelten, verdichteten Kernen zwei Nährzellen mit stark pyknotisch verändertem Kern, zwei Nährzellen mit normal aussehenden Kernen und eine ebensolche Eizelle. Im abgebildeten Schnitte von F_3 sind unten die zwei Zellen mit den normalen Kernen und darüber drei mit schon stark verdichteten Kernen zu sehen. Die pyknotischen Veränderungen der Keimzellkerne sind bei allen Altersstufen der Follikel und in verschieden starker Ausprägung zu finden. Es gibt sehr junge Follikel mit stark verdichteten abgekugelten Keimzellkernen, anderseits auch wohlausgebildete, dotterhaltige Follikel, bei denen erst schwache Anzeichen von Kernveränderungen in den grossen Nährzellen zu sehen sind. In diesem Fall darf wohl angenommen werden, dass die Degeneration erst bei fortgeschrittenem Entwicklungsstand der Oocyten I begonnen hat. Die histologisch sichtbare Reaktion auf die experimentelle Einwirkung kann also unter Umständen erst sehr spät, gegen Ende der Keimzellentwicklung erfolgen.

Die unterschiedliche Reaktion der einzelnen Keimzellen eines Follikels, sowie überhaupt das Vorkommen von Oocyten I mit sichtbaren und z.T. eindeutig letalen Nachwirkungen der Behandlung muss auffallen, wenn man bedenkt, dass der Schaden ja zu einer Zeit gesetzt wurde, da von der ganzen Keimzellgruppe erst die Mutterzelle vorhanden war. D e r I n s u l t w i r d i n d i e s e n F ä l l e n a l s o e r s t i n d e r v i e r t e n n a c h -

folgenden Zellgeneration und nur für einen Teil der Schwesterzellen verhängnisvoll. Diese merkwürdig verzögerte und dazu nur partielle Wirkung tritt sowohl nach dem mechanischen Eingriff, wie auch nach der Bestrahlung mit UV oder Röntgen auf und wird noch näher zu diskutieren sein (s. S. 139). Ob auch schon während der Umwandlungsteilungen der Oogonien zu Oocyten I Zellen abortiv werden oder ob einzelne oocytogenetische Mitosen ausfallen, ist am vorliegenden Material nicht mit genügender Sicherheit feststellbar.

Bis jetzt wurde die mannigfaltige Ausbildung jener Ovariolen und ihrer Follikel beschrieben, die nach dem experimentellen Eingriff noch Keimzellen enthalten. Es muss nun besonders hervorgehoben werden, dass in nicht weniger als in 29 von den 60 partiell agametischen Ovarien ausser den ± geschädigten Ovariolen und Follikeln auch noch keimzellfreie, ungeteilte Ovariolen zu finden sind, die strukturell mit den agametischen Ovariolen der total keimzellfreien Ovarien völlig übereinstimmen (Abb. 15, ag.Ov). Diese agametischen Ovariolen liegen in nächster Nachbarschaft von ausgebildeten Eiern und reifenden Follikeln. Das Nebeneinander von vollentwickelten, von zurückgebliebenen und von ungeteilten agametischen Ovariolen zeigt, dass sich die Ovariolen innerhalb eines Ovars weitgehend unabhängig voneinander entwickeln. Daher war es für unsere Untersuchung auch überflüssig, von allen Versuchsserien total agametische Ovarien zu besitzen (s. S. 123). Die ungeteilten Ovariolen aus den nur partiell agametischen UV- und Röntgen-Ovarien dürfen ohne weiteres denen aus den total agametischen Ovarien gleichgestellt werden. Die Zahl der tauben Ovariolen in den 29 partiell agametischen Ovarien schwankt zwischen 1 und 10. Eine der ungeteilten Ovariolen eines UV-bestrahlten Ovars enthält in ihrem Spaltraum noch Überreste zerfallener Zellen, die der Färbbarkeit nach Keimzellen gewesen sind Abb. 16, K).

Es wurde S. 131 erwähnt, dass die Follikel im allgemeinen typisch ausgebildet sind. Von den in einigen Fällen gefundenen Abweichungen erfordert die eine jedoch eine nähere Untersuchung. Es war bei ein paar Follikeln geschädigter Ovarien deutlich zu erkennen, dass das Follikelepithel eine grössere Dicke erreicht hatte, als dies auf Grund der Eikerngrösse zu erwarten war. Bei der Beschreibung der Normalentwicklung (s. S. 113 ff) wurde dargelegt,

dass jedem der verschiedenen Entwicklungsstadien der Follikel sowohl eine bestimmte Grössenklasse der Eikerne als auch ein bestimmter Dickenbereich des Follikelepithels entsprechen (Abb. 5, S. 111). Es kann deshalb angenommen werden, dass die beiden Grössen ein Mass der physiologischen Entwicklungshöhe darstellen. Da es sich ausserdem in beiden Fällen mit zunehmender Entwicklung um stetig wachsende Grössen handelt, muss im Normalfollikel zwischen Eikerngrösse und Epitheldicke eine numerische Korrelation bestehen. Dieser Korrelation kann eine direkte Kausalbeziehung zwischen den beiden Grössen zugrunde liegen; sie ist aber nicht notwendige Voraussetzung dazu. Eine direkt kausal bedingte num. Korrelation liegt dann vor, wenn der Entwicklungsstand des einen Follikelbestandteiles, z.B. derjenige der Eizelle, den Ausbildungsgrad des andern bestimmt. Die num. Korrelation kann aber auch einfach Ausdruck einer Parallelentwicklung sein, die von einer übergeordneten Stelle her synchronisiert wird. Als solche käme nach den Untersuchungen von M. Vogt (1942) vor allem die Ringdrüse in Betracht. Wenn Eizelle und Follikelepithel sich parallel, d.h. unabhängig voneinander entwickeln, ist es denkbar, dass die Korrelation zwischen Eikerngrösse und Epitheldicke experimentell gestört oder aufgehoben werden kann. Jedes der beiden Follikelelemente kann dann einzeln durch den experimentellen Eingriff in seiner Entwicklung gehemmt werden, ohne dass der andere dadurch in Mitleidenschaft gezogen werden muss. Dagegen muss die Korrelation in allen Fällen, auch bei Hemmung nur des einen Teiles, unverändert erhalten bleiben, wenn die Entwicklung in gegenseitiger oder auch nur einseitiger Abhängigkeit voneinander erfolgt; bei einseitiger Abhängigkeit allerdings nur,

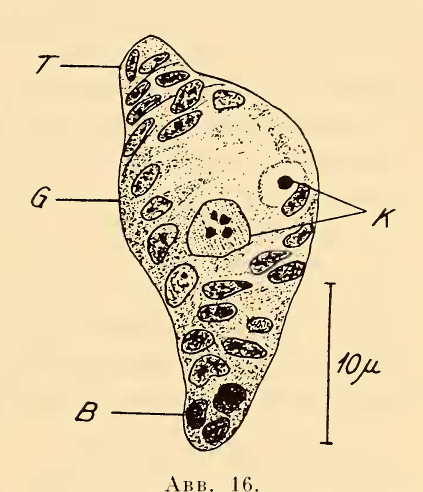


Abb. 16.
Ungeteilte Ovariole mit Resten von Keimzellen. B Ansatz des Basalstieles; G Germarium; K Keimzellen; T Ansatz des Terminalfilamentes. Längsschnitt.

wenn die in der Entwicklung unabhängige Grösse auch bei der Berechnung als Unabhängige eingesetzt wird.

Wenn nun bei einigen Follikeln ein Missverhältnis zwischen Eikerngrösse und Epitheldicke zu finden ist, so berührt dieser Befund, wie obige Erwägungen zeigen, die wichtige Frage nach den Beziehungen zwischen Eizelle und Follikelepithel während der Entwicklung des Follikels. Es wurde deshalb geprüft, ob als Folge der Ovarbehandlungen eventuell eine allgemeine Lockerung der Korrelation zwischen Eikerngrösse und Epitheldicke entstanden ist. Zu diesem Zwecke wurden jene Follikel der behandelten Ovarien ausgemessen, welche durch den Eingriff anscheinend nicht beeinflusst worden sind, d.h. Follikel ohne nachweisbare histologische Veränderungen ihrer Zellen. Die Untersuchung musste sich auf diese „normalen" Follikel beschränken, da in pathologisch veränderten mit nachträglichen Grössenverschiebungen durch Regressionsvorgänge gerechnet werden muss. Ebenso kamen aus technischen Gründen für diese Messungen nur die Stadien in Betracht, bei denen die Eikerne unzerschnitten bleiben (Stad. I—IV, Abb. 5).

In den mechanisch zerstörten und in den mit Röntgen bestrahlten Ovarien konnten je 20 „normale" Follikel ausgemessen werden. Als unabhängige Bezugsgrösse wurde die Grösse des Eikerns gewählt. Die 40 Follikel gehören ihrer Eikerngrösse nach alle zu den Entwicklungsstadien II und III. Als normale Vergleichsfollikel wurden deshalb solche mit relativen Eikerngrössen zwischen 0,8 und 10,5 gewählt (s. Abb. 5). Diesen entsprechen nach Abb. 5 relative Follikelepitheldicken von 7—12. Die Messungen wurden auf die gleiche Art wie für Abb. 5 durchgeführt, nur wurde aus Gründen der Berechnung und der Darstellung für die Eikerne nicht der Inhalt des Rotationsellipsoides, sondern der Radius der damit inhaltsgleichen Kugel verwendet (konstantes Glied vernachlässigt).

In den drei Diagrammen von Abb. 17 sind je die 20 Wertepaare von Normalovarien (unten), von mechanisch zerstörten (Mitte) und von Röntgen-Ovarien (oben) aufgezeichnet. Die Kernradien sind auf der Abszisse, die zugehörigen Epitheldicken auf der Ordinate eingetragen. Die lang-kurz-lang gestrichelten Horizontalen bezeichnen die normale Minimaldicke 7 des Follikelepithels im Follikelstadium II, die kurz gestrichelten Horizontalen analog die normale Maximaldicke 12 im Follikelstadium III. Die beiden Horizontalen begrenzen also nach unten und oben das normale Intervall der Epitheldicke von Follikeln des II. bis III. Stadiums.

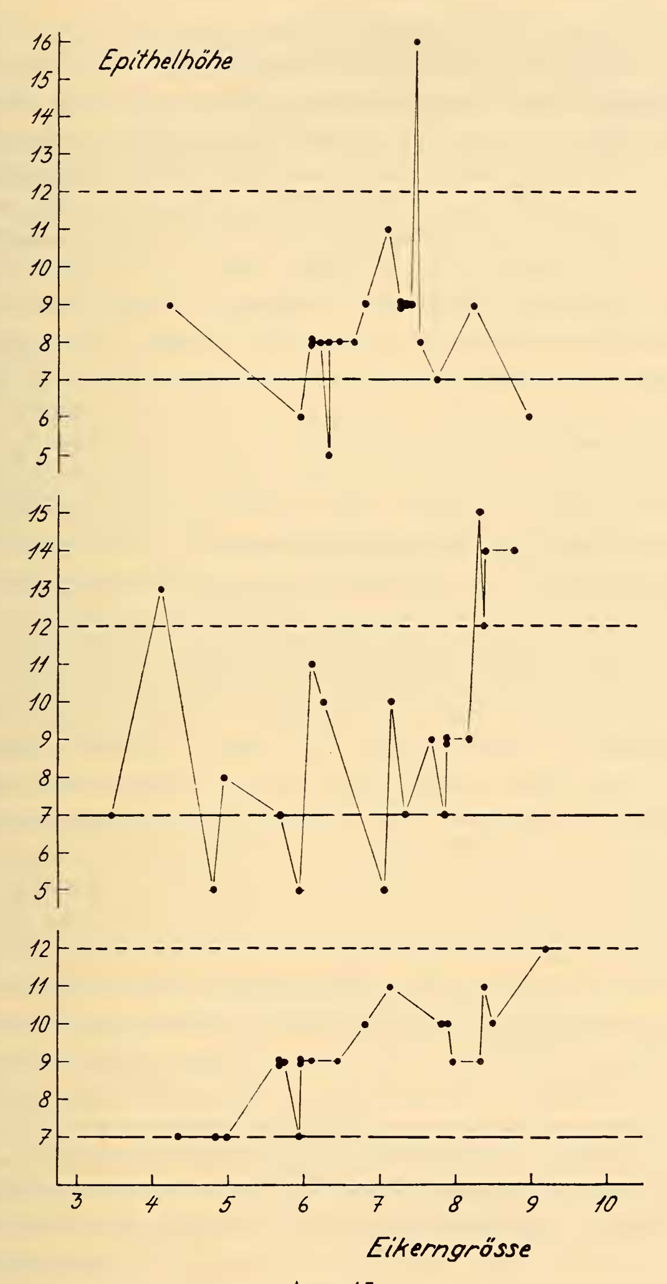


Abb. 17.

Das Verhältnis zwischen Eikerngrösse und Follikelepitheldicke bei normalen (unten), mechanisch zerstörten (Mitte) und röntgenbestrahlten Ovarien (oben). Erklärung im Text.

Das Diagramm der normalen Ovarien zeigt trotz einer relativ breiten Variation deutlich das kontinuierliche Ansteigen der Follikelepitheldicke mit zunehmender Eikerngrösse. Bei den zwei andern Diagrammen ist bei gleichem Intervall der Eikernradien fürs erste eine sehr viel grössere Spannweite der Epitheldicken zu erkennen. Sie geht im mittleren Diagramm von 5—15 und im oberen von 5—16. Das bedeutet, dass in beiden Experimenten die Epithelien z.T. nicht einmal die Minimaldicke ihrer Klasse erreicht haben, anderseits aber auch Ausmasse zeigen, die älteren Follikelstadien entsprechen würden. Die extremen Werte verteilen sich in beiden Diagrammen regellos auf die verschiedenen Eikerngrössen, so dass die Kurven vollkommen gesetzlos um die Basislinie 7 schwanken. Die Berechnung der num. Korrelation bestätigt den Eindruck, den die graphische Darstellung vermittelt. Unter der Annahme, dass der Eikern die unabhängige Komponente sei, wurden die folgenden Bestimmtheitsmasse ($B = r^2$, LINDER 1945) erhalten: für die 20 Normalfollikel unbehandelter Ovarien beträgt $B = 0{,}64$; für die 20 Follikel aus mechanisch zerstörten Ovarien ist $B = 0{,}27$ und für die 20 Follikel der röntgenbestrahlten Ovarien 0,007. Das bedeutet, dass bei den Normalfollikeln 64% der Streuung der Epitheldicke auf die Veränderung der Eikerngrösse zurückzuführen sind, bei den Follikeln aus den mechanisch zerstörten Ovarien aber nur noch 27% und bei den Follikeln der röntgenbestrahlten Ovarien noch 0,7%. Dabei ist das Vorhandensein einer Korrelation zwischen Eikerngrösse und Epitheldicke bei den Normalovarien mit einem $P < 0{,}001$ stark gesichert, während sie für die mechanisch zerstörten Ovarien mit einem P zwischen 0,01 und 0,05 fraglich ist. Bei den Röntgenovarien liegt P weit über 0,05; damit fällt eine Korrelation ausser Betracht. Diese Zahlen zeigen klar, dass die Behandlung auch bei den Follikeln ohne histologisch feststellbare Zellschäden nicht ohne Wirkung geblieben ist. Sie hat zu einer starken *Lockerung* bzw. *Aufhebung der num. Korrelation zwischen Eikerngrösse und Follikelepitheldicke* geführt. Die Resultate der mechanischen und der Röntgenexperimente sind auch dafür gleichsinnig. Die Wirkung der Röntgenstrahlen ist ausgeprägter als die der mechanischen Zerstörung. Das Zahlenmaterial ist aber zum rechnerischen Nachweis der Signifikanz des Unterschiedes zu klein. Wie die Verschlechterung der Korrelation zu interpretieren ist

(vergl. S. 133), lässt sich aus der Verteilung der einzelnen Punkte in Abb. 17 herauslesen. Bei den mechanisch zerstörten Ovarien liegen bei drei Wertepaaren die Epitheldicken weit unterhalb der Basislinie 7. In diesen drei Follikeln ist demnach die Entwicklung des Epithels hinter der Eizellentwicklung zurückgeblieben. Bei vier Follikeln liegen dagegen die Werte für die Epitheldicke über der Grenzlinie 12. Hier ist also das Epithel weiter entwickelt als die Eizelle. Entsprechend blieb bei den Röntgenovarien in drei Follikeln die Epithelentwicklung hinter der Eizellentwicklung zurück, während sie in einem Fall stark vorauseilt. Dass nun sowohl Eizelle als auch Follikelepithel in der Entwicklung vorausgehen können, zeigt, dass die beiden in ihrer Entwicklung gegenseitig voneinander unabhängig sind. Damit ist zugleich nachgewiesen, dass es erlaubt war, für die Berechnung der Korrelation die Eikerngrösse als Unabhängige einzusetzen.

Es bleibt noch der Bereich zu diskutieren, für den die Aussage über die Unabhängigkeit zwischen Eizelle und Epithel gültig ist. Die Korrelation wurde für Follikel des II. und III Entwicklungsstadiums berechnet. Die gegenseitig unabhängige Differenzierung der beiden Follikelelemente ist deshalb mindestens für diese beiden Stadien festgestellt. Der Geltungsbereich des Befundes lässt sich aber noch erweitern, wenn die einzelnen Wertepaare untersucht werden. Die minimale, vom Epithel erreichte Dicke, ist 5. Das entspricht dem Follikelstadium I. Die Eizelle hat sich in diesen Fällen trotzdem bis zum II. resp. III. Stadium weiterentwickelt. Die Unabhängigkeit der Eizelle vom Follikelepithel gilt damit schon vom I. Stadium an. — Die maximale Dicke des Epithels beträgt 16. Das Epithel kann sich also bis zum IV. Stadium entwickeln, auch wenn der Eikern sich noch im III. Stadium befindet (Röntgendiagramm). Entsprechendes zeigt das zweite Wertepaar des mittleren Diagrammes. Die Grösse des Eikernes entspricht mit 7,1 dem II. Stadium, das Epithel hat mit seiner Dicke von 13 die Maximaldicke für das III. Stadium überschritten. Obwohl die Extremwerte nur den Nachweis der Unabhängigkeit je des einen Partners liefern, so ist es doch wahrscheinlich, dass die gegenseitige Unabhängigkeit in der Entwicklung für die ganze Zeitspanne vom I. bis zum IV. Follikelstadium gilt.

Dieser mathematische Nachweis der unabhängigen Differenzierung darf in seiner Bedeutung jedoch nicht überschätzt werden.

Ein analoges Resultat ist unter Umständen auch möglich, wenn nur Intervalle unabhängiger Entwicklung bestehen, die von kurzen Phasen der Abhängigkeit unterbrochen sind, oder wenn der eine Partner zu seiner Weiterentwicklung doch gelegentliche Induktionswirkungen des andern empfangen muss. Alle aus der vorigen Korrelationsberechnung gezogenen Schlüsse gelten deshalb nur mit dieser Einschränkung.

d) *Zusammenfassung und Diskussion.*

Bei Ovarien verpuppungsreifer Larven, d.h. bei Ovarien, denen imaginale Differenzierungen wie Ovariolenstränge und Follikel noch vollständig fehlen, wurden durch Ausquetschen oder Aussaugen und durch Bestrahlen mit UV oder Röntgen die Keimzellen teilweise oder vollständig eliminiert. Trotz der Verschiedenheit der angewandten Mittel zeigen die so erhaltenen total oder partiell agametischen Ovarien identischen histologischen Bau.

In den *total agametischen Ovarien* erfolgt im zurückbleibenden somatischen Gewebe trotz der Abwesenheit der Keimzellen eine deutliche imaginale Differenzierung. Die Epithelialzellen schliessen sich zu Ovariolensträngen mit Terminalfilament, Germarium und Basisstiel zusammen (Abb. 12, 13). Diese Ovariolenstränge durchlaufen alle auch im Normalfall auftretenden Entwicklungsphasen, ausgenommen die Follikelabschnürung und die Ausbildung des kubischen Follikelepithels. Die Ovariolenstränge liegen im Ovarstroma (Zwischen- und Basisgewebe) eingebettet, dessen Abbau unterbleibt.

Die nur *partiell agametischen Ovarien* enthalten nebeneinander in bunter Vielfalt: ausgebildete Eier, normal aussehende, sowie pathologisch veränderte Follikel und — in der Hälfte der Fälle — ungeteilte Ovariolen von gleichem Bau wie in den total agametischen Ovarien (Abb. 15, S. 130). Die pathologischen Erscheinungen betreffen überwiegend die Keimzellen. Es handelt sich dabei um pyknotische Veränderungen in den Ei- und Nährzellen der verschiedensten Entwicklungsstadien mit z.T. letalem Ausgang. Es fällt besonders auf, dass die Reaktion auf die verschiedenen Insulte erst vier Zellgenerationen nach der Schadensetzung auftritt. — Die Korrelation zwischen der Grösse des Eikernes und der Dicke des Follikelepithels ist gestört. Das beweist, zusammen mit der besonderen Verteilung der Einzelwerte in Abb. 17 (s. S. 135), die

gegenseitige Unabhängigkeit von Eizell- und Epitheldifferenzierung mindestens während der untersuchten Stadien II und III, bzw. I—IV der Follikelentwicklung. — Die Reduktion des somatischen Grundgewebes steht in Zusammenhang mit der Differenzierung der Keimzellen. In Ovarbezirken mit reifenden Follikeln ist sie vollständig, in agametischen Teilen unterbleibt sie.

Die *Diskussion* sei mit der Frage nach der unmittelbaren Wirkung der verschiedenen Behandlungen eröffnet. Es wurde schon früher auf die merkwürdige Verzögerung in der Manifestation der Behandlungsschäden an den Keimzellen hingewiesen (S. 131). In allen Experimenten traf der gesetzte Schaden die Keimzellen im oogonialen Stadium. Von einem Teil der betroffenen Oogonien kann angenommen werden, dass sie noch als solche ausgeschaltet wurden, sei es durch Verlust bei den mechanischen Experimenten, oder durch unmittelbar anschliessenden Zerfall in den Bestrahlungsexperimenten. Wurde eine genügende Menge von Keimzellen schon im oogonialen Stadium entfernt oder aufgelöst, so entstanden die agametischen Ovariolenschläuche. Von diesen enthielt sehr wahrscheinlich ein Teil zu Beginn noch eine gewisse Anzahl von sich später auflösenden Oogonien (Abb. 16). Viele der agametischen Ovariolen sind aber sicher bei vollkommener Abwesenheit von Keimzellen gebildet worden (vergl. die Entstehung agametischer Ovariolen bei Geigy 1931).

Eine grosse Zahl der Oogonien, die dem Insult ausgesetzt waren, durchlief jedoch anschliessend noch die vier Umwandlungsteilungen zu den Oocyten I. Ordnung; ein Prozess, der — vom Moment der Behandlung an gerechnet — sich im Normalfall noch über eine Zeitspanne von 9—22 h erstreckt. Erst dann, nach dieser vierfachen Mitoseleistung, macht sich im Verlauf der langen Entwicklungszeit der Oocyte I, die nochmals 3—4 Tg umfasst, der vor vier Zellgenerationen gesetzte Schaden bemerkbar und führt unter den Nachkommen einer betroffenen Oogonie anscheinend zufallsmässig zum Absterben einer wechselnden Zahl von Geschwisterzellen. Dieses Verhalten der geschädigten Keimzellen lässt in erster Linie an genetische Vorgänge denken. Sowohl für die Röntgen- als auch für die UV-Experimente würde eine direkte Schädigung des Zellkernes, nach allen Erfahrungen über die genetische und zytologische Wirkung dieser beiden Strahlenarten, als gegeben erscheinen. Dennoch erheben sich beträchtliche Schwierigkeiten, wenn man

erklären will, wieso gerade in der vierten nachfolgenden Zellgeneration ein gehäuftes Absterben erfolgt. Von den Zellen vieler Lebewesen ist bekannt, dass sie nach Bestrahlung noch eine Mitose vor dem Absterben durchlaufen können. Zusammenfassungen über die Untersuchungen auf diesem Gebiet sind u.a. bei Carlson (1950) und Gray (1951) zu finden. Bei der vermutlich polyploiden *Amoeba proteus* (Friedrich-Freksa und Kaudewitz 1951/53) konnte festgestellt werden, dass die betroffenen Zellen auch zu mehr als nur einer nachfolgenden Mitose fähig sind. Nach Bestrahlen mit radioaktivem Phosphor war bei *Amoeba prot.* die Absterberate in der 5. Generation am grössten (ca 40%). Für eine schon höher differenzierte Metazoenzelle gestatteten uns die günstigen Verhältnisse bei der Oocytogenese von *Drosophila* die sichere Feststellung von vier nachfolgenden Mitosen. Der Zellzusammenbruch erfolgt also bei *Amoeba* und *Drosophila* nach einer physiologisch weitgehend übereinstimmenden Zeitspanne. — Eine Zusammenfassung über die Experimente an Amphibien mit entsprechend verzögerter Schädigung findet sich bei Rugh (1954).

Eine noch viel stärker verzögerte Reaktion erhielten Friedrich Freksa und Kaudewitz, wenn sie statt zu bestrahlen, den radioaktiven Phosphor in die Chromosomen einbauten. Sie glauben daher, dass die Reaktionsverzögerung auf der Schädigung von Elementarteilchen der Gene (Elementarfibrillen der Chromosomen) beruht. Durch Segregation im Verlauf der Generationen würde dann der Schaden manifest. Die Berechnung der Absterberate auf Grund der Annahme von 2—16 Elementarfibrillen ergeben aber für *Amoeba* Werte von ganz anderer Grössenordnung, als sie bei unseren Experimenten an *Drosophila* verwirklicht sind. Bei der Annahme von 2 Elementarfibrillen pro Chromosom würde das Letalitätsmaximum in der 2. Generation liegen und zwar würden hier 17% der Abkömmlinge behandelter Zellen absterben; bei der Annahme von 4 Elementarfibrillen dagegen würde das Letalitätsmaximum von nur noch 2,5% erst etwa in der 7. Generation erreicht (Werte aus den Abbildungen von Friedrich-Freksa und Kaudewitz 1953 entnommen bzw. geschätzt). Demgegenüber ist bei unseren Experimenten in vielen Follikeln eine 100%ige Letalität in der 5. Generation verwirklicht. Diese Werte zeigen, dass es sich hier trotz der Verzögerung in der Manifestation um gröbere Genomschäden handeln muss, wie man sie als Folge von Bestrahlung mit

Röntgen und UV in mannigfaltiger Ausbildung kennt. Dies alles gilt natürlich immer unter der Voraussetzung, dass es sich überhaupt um einen Kernschaden handelt. Bei *Amoeba prot.* könnte die verzögerte Strahlenwirkung mit der vermuteten Polyploidie zusammenhängen. Trotz des mehr oder weniger übereinstimmenden Zeitpunktes, in dem die Zellen absterben, wird man daher die Vorgänge bei *Amoeba* und *Drosophila* nicht ohne weiteres miteinander vergleichen können. Die Erklärung, wieso bei *Drosophila* ein grober, letal wirkender Genomschaden erst nach verschiedenen Teilungen, dann aber bei etlichen Zellen zugleich, sich auswirkt, ist schwieriger. Es muss hier eines auffallen: der Zusammenbruch der geschädigten Keimzellen erfolgt in einer Periode gesteigerter Anforderungen. Die Oocyte I muss wachsen und ihr Volumen um ein Vielfaches vergrössern. Dagegen erfolgt während der Umwandlungsteilungen nahezu kein Wachstum, dieses setzt erst nach der vierten Teilung ein. In den heranwachsenden Nährzellen spielen sich ausserdem endomitotische Vorgänge ab und die Sekretionsphase muss eingeleitet werden. Hierin liegt vielleicht der Grund zum plötzlichen Zusammenbruch in der 5. Generation. Für die Mutante *lgl* macht GLOOR (1943) ebenfalls darauf aufmerksam, dass die schädigende Wirkung des Genes erst in der Wachstumsphase der Keimzellen manifest wird. Der Verlust bestimmter Gene könnte sich erst dann bemerkbar machen, wenn ihre Funktion für die Zelle lebensnotwendig wird. Dies würde dem von HADORN (1948) formulierten Prinzip des stufenweisen Geneinsatzes entsprechen.

Bei den vorliegenden Experimenten tritt nun aber eine zufallsmässige und über 4 Zellgenerationen verzögerte Wirkung des Insultes nicht nur bei den Strahlenexperimenten, sondern auch nach der einfachen m e c h a n i s c h e n Beschädigung ein. Hier aber ist die Annahme einer primären Kernschädigung recht unwahrscheinlich. Eine direkte mechanische Beschädigung von Zellkernen beim Zerstören der Ovarien ist, besonders mit einer solchen Häufigkeit, wie man sie bei der grossen Zahl pathologischer Oocytengruppen voraussetzen müsste, nicht gut möglich. Viel eher ist anzunehmen, dass durch die Verletzung in erster Linie das Zytoplasma betroffen wird. Wie sind unter diesen Umständen die identischen Resultate von Strahlen- und mechanischen Experimenten zu verstehen ?

Ephrussi (1951) hat bei Hefen die Existenz autoreproduktiver Plasmapartikel, die entscheidend in das Zellgeschehen eingreifen, wahrscheinlich gemacht. Bei den Strahlenexperimenten besteht ohne weiteres die Möglichkeit, dass solche Partikel geschädigt und soweit dezimiert werden könnten, dass ihre Anzahl nach der viermaligen — zufälligen — Verteilung nicht mehr in allen Zellen zur Aufrechterhaltung der lebensnotwendigen Vorgänge genügt. Für die verzögerte Wirkung wäre dann nicht, wie bis jetzt angenommen, ein Genom- sondern ein irreparabler Plasmonschaden verantwortlich. Nun müsste aber auch für die Keimzellen mechanisch verletzter Ovarien das Absinken der Partikelzahl unter das notwendige Minimum erklärt werden. Der Hinweis auf den mit einer Verletzung möglicherweise verbundenen Plasmaverlust dürfte dazu nicht genügen. Einmal fallen nicht notwendigerweise nur verletzte Zellen in der Folgezeit aus. Zum andern ist es fraglich, wie weit Zellen, die grosse Teile ihres Zytoplasmas verloren haben, regenerationsfähig sind. Nach den bisherigen Erfahrungen kommen autoreproduktive Plasmapartikel aber meist in grossen Mengen im Zytoplasma vor, so dass nur ein wirklich einschneidender Zytoplasmaverlust ihre Anzahl wirksam verringern könnte. Damit wird auch mit der Annahme von Plasmapartikeln die Erklärung der Manifestationsverzögerung nicht weniger schwierig. Eine Schädigung von Plasmapartikeln kann bei den mechanischen Experimenten ebensowenig wie eine Kernschädigung ohne zusätzliche Hypothese angenommen werden.

Da in unseren Experimenten mechanische Zerstörung und Bestrahlung zu den gleichen Resultaten führten, wird man sich immer fragen müssen, welche identischen primären Vorgänge sich nach den zwei verschiedenen Behandlungsarten im Gewebe abgespielt haben konnten. Es wäre hier z.B. an die Entstehung besonderer Stoffe — Zersetzungsprodukte — zu denken, deren Bildung sowohl in mechanisch verletzten als auch in bestrahlten Zellen zu erwarten ist. Diese Stoffe könnten ebenso gut als Plasma- wie als Kerngifte wirken und damit Ursache der späten Letalität sein. Dass chemische Eingriffe wirklich zum gleichen Schädigungsbild wie nach mechanischer Zerstörung oder Bestrahlung führen können, zeigt die Behandlung von Ovarien des letzten Larvenstadiums von *Dros. mel.* mit Colchicin *in vitro* (Hadorn 1946). Dieses Experiment vermittelt auch einen Einblick in den

möglichen Mechanismus der Zellschädigung. Colchicin ist als Spindelgift bekannt. Seine mosaikartige Wirkung auf die Oogonien von *Drosophila* bei unveränderter Mutationsrate in der Nachkommenschaft lässt HADORN schliessen, „dass die beobachteten letalen Zellschäden in den behandelten Ovarien nicht auf Genmutationen (dominanten Letalfaktoren) sondern auf der Entstehung nicht-balancierter Chromosomensätze oder andern Mitosestörungen beruhen." Auch AUERBACH und MOSER (1953) erhielten chemisch induzierte und verzögerte Wirkungen auf die Keimzellen durch Züchten von männlichen *Drosophila*larven auf Formalinfutter. — Im Zusammenhang mit der Möglichkeit primärer chemischer Vorgänge interessieren noch die Untersuchungen von STONE u. Mitarb. (1947/1948) an *Staphylococcus aureus*, bei dem eine Erhöhung der Mutationsrate durch UV-Bestrahlung des Kulturmediums v o r der Beimpfung mit den Kokken erreicht wurde. Für die Erhöhung der Mutationsrate machen die Autoren die Veränderung des Zytoplasmas verantwortlich, die dadurch hervorgerufen wird, dass im bestrahlten und dadurch chemisch veränderten Kulturmedium der Stoffwechsel verändert ist. Versuche von SCHLIEP (1923) an *Arbacia*-Eiern ergaben Kernabnormitäten nach ausschliesslicher Bestrahlung des Eiplasmas. An *Dros. mel.* konnten BONNIER u. Mitarb. (1952) eine Zunahme der Mutationsrate des X-Chromosoms des befruchtenden Spermiums in Eiplasma, welches v o r der Befruchtung bestrahlt wurde, wahrscheinlich machen. Alle diese Experimente deuten darauf hin, dass chromosomale Veränderungen ihren Ursprung auch in zytoplasmatischen Vorgängen haben können.

Es muss noch die Möglichkeit erwähnt werden, dass bei den mechanischen Experimenten nicht nur die Verletzung an sich, sondern auch die zur Sektion verwendete Holtfreterlösung die Zellen schädigen könnte. HADORN und FRITZ (1950) haben an weiblichen Genitalscheiben eine gewisse Reizwirkung von hyper- und hypotonischen Salzlösungen festgestellt. Dagegen wurde bei den vielen Ovartransplantationen nie ein schädigender Einfluss der Holtfreterlösung beobachtet. Doch auch bei Vorliegen einer solchen Schädigung würde an den in der Diskussion vorgebrachten Argumenten für eine indirekte Kernschädigung nichts geändert.

Eine Entscheidung zwischen den verschiedenen diskutierten Ursachen der verzögerten Letalität kann nicht getroffen werden. Die Annahme einer G e n o m veränderung, die bei den mechanischen Experimenten eine Folge plasmatischer Vorgänge wäre,

erscheint vorläufig als die wahrscheinlichere, da sie weniger mit Hypothesen belastet ist als die Annahme einer irreparablen Plasmonveränderung. Es fragt sich sogar, ob nicht auch bei den Röntgen- und den UV-Experimenten primär eine Veränderung des Zytoplasmas erfolgte, die erst sekundär zum Kernschaden führte oder ob nicht doch wenigstens neben dem primären Strahleninsult des Kernes eine sekundäre Kernschädigung zur Auswirkung kam, die durch den veränderten Zellchemismus hervorgerufen wurde.

Von den mittelbaren Folgen der experimentellen Behandlung larvaler *Drosophila*-Ovarien ist die Entstehung ungeteilter agametischer Ovariolen am eindrücklichsten. Diese agametischen Ovariolen entsprechen den von Geigy (1931) und Aboim (1945) beschriebenen „cordons cellulaires" resp. „ovarioles agamétiques" (s. S. 127 ff), welche eine von den Keimzellen vollkommen unabhängige Leistung des Gonadensomas darstellen, denn ihre Bildung erfolgte, ohne dass Keimzellen je mit der mesodermalen Gonadenanlage in Berührung standen. Dagegen musste für die Follikelbildung eine solche Abhängigkeit postuliert werden, denn ihre Abtrennung unterblieb, obwohl das somatische Gewebe nie einer schädigenden Wirkung ausgesetzt war, ausser dass eben die Keimzellen fehlten. In unsern Experimenten verblieben die Keimzellen im Gegensatz zu den Experimenten von Geigy und Aboim während der ganzen Embryonal- und Larvalentwicklung innerhalb des Gonadensomas. Trotzdem unterblieb auch hier die Follikelbildung. Die Differenzierungsleistung der erst spätlarval agametisch gewordenen Ovarien übertrifft in keiner Weise diejenige der *ab origine* agametischen Gonaden. Das bedeutet aber, dass die Keimzellen während der ganzen Zeit der Embryonal- und Larvalentwicklung keinerlei Einfluss auf die Entwicklung des somatischen Ovargewebes ausüben; sei es, dass sie während der Zeit noch keine diesbezügliche Aktivität entfalten, sei es, dass die Epithelialzellen zur Aufnahme einer solchen Wirkung noch nicht kompetent sind. Die Entwicklung der Epithelialzellen verläuft während dieser ganzen Zeit in Bezug auf die Keimzellen rein mosaikartig.

Es liesse sich hier einwenden, dass die Follikelbildung auch zufolge einer experimentell bedingten Schädigung der Epithelialzellen ausgefallen sein könnte. Es wäre dann aber sowohl durch das Operationstrauma wie durch den UV- und Röntgeninsult gerade nur diese spezifische Fähigkeit der Epithelialzellen unterbunden worden, da sie sich ja im übrigen imaginal differenzieren. Bedenkt man zudem die Übereinstimmung zu den Ovariolen primär agametischer Ovarien bei Geigy und Aboim, so kann diese Möglichkeit ausgeschlossen werden.

Mit der Berechnung der num. Korrelation zwischen Eikerngrösse und Follikelepitheldicke (s. S. 133 ff) wurde wahrscheinlich gemacht, dass die Entwicklung auch während der Follikelstadien II—III (bzw. I—IV) mosaikartig verläuft. Da aber nach wie vor nicht daran gezweifelt werden kann, dass die Keimzellen für die vollständige imaginale Differenzierung der Epithelialzellen unentbehrlich sind, bleibt nach diesen Ergebnissen weiterhin die Frage offen, wann und unter welchen Bedingungen die Keimzellen in die Entwicklung des Gonadensomas eingreifen. Einen Hinweis für die Beantwortung dieser Frage geben die nur partiell agametischen Ovarien. Das Vorhandensein weit entwickelter Keimzellen in einem Ovar verhindert nicht, dass benachbarte taube Ovariolen ungeteilt bleiben. Es ist merkwürdig, dass in solcher Lage überhaupt agametische Ovariolen entstehen können und sich die Epithelialzellen nicht vollzählig um die in der Nähe liegenden Keimzellen gesammelt haben. Es ist dies ein weiteres Indiz dafür, wie unabhängig sich die Ovariolenbildung vollzieht. Dass diese agametischen Ovariolen dazu auch noch ungeteilt bleiben, zeigt, dass die Keimzellen nur einen sehr kleinen Einflussbereich besitzen und nur auf diejenigen Epithelialzellen einwirken können, die ihnen unmittelbar anliegen; nicht aber allgemein die Entwicklung im Ovar beeinflussen. Das lässt vermuten, dass der Beginn ihrer Aktivität nicht vor ihrem Einschluss in die Ovariolen, d.h. frühestens 6—8 h nach der Pupariumbildung zu erwarten ist, da ihnen erst dann ein Verband von Epithelialzellen zugeordnet ist.

Für das Verhältnis von Keimzellen und Epithelialzellen gibt es prinzipiell zwei Möglichkeiten: 1. Die Entwicklung der Epithelialzellen erfolgt (von einem gewissen Zeitpunkt an) in ständiger oder periodischer Abhängigkeit von der weiterschreitenden Entwicklung der Keimzellen. 2. Es besteht eine kurze Phase, während der die

Follikelbildung durch die Keimzellen induziert wird. Vor und nach dieser Phase verläuft die Entwicklung mosaikartig. — Die erste Möglichkeit kann auf Grund der vorliegenden Ergebnisse weitgehend ausgeschlossen werden. Es muss deshalb in erster Linie eine zeitlich begrenzte Induktionsphase postuliert werden. In den nachfolgend beschriebenen Untersuchungen wird versucht, Nachweis und Bestimmung dieser Induktionsphase zu erbringen.

2. Ausschaltung der Keimzellen bei Vorpuppen und Puppen.

Sterilisationsversuche an älteren Tieren als verpuppungsreifen Larven müssen nicht notwendigerweise andere Befunde liefern, als sie für die partiell agametischen Ovarien des vorangehenden Kapitels beschrieben wurden. Bei den nur partiell agametischen Ovarien wurden die Keimzellen ja in den verschiedensten und z.T. sehr fortgeschrittenen Entwicklungsstadien blockiert (S. 128 ff). Soweit die Entwicklung des Gonadensomas nur vom erreichten Entwicklungsstand der Keimzellen abhängt, sind deshalb nach später Schädigung identische Leistungen zu erwarten, wie nach später Blockierung auf frühe Schädigung hin. Dennoch kann man von Versuchen an aufeinanderfolgenden spätern Entwicklungsstadien neue Aufschlüsse erhoffen. Einmal lässt sich bei den überlebenden Keimzellen der bisherigen Experimente zwar feststellen, wie weit sie sich entwickelt haben, nicht aber, wie lange sie auch normal funktionierten. Zweitens ist die Struktur der partiell agametischen Ovarien derart unübersichtlich, dass immer nur für die dem Calyx unmittelbar anliegenden Bezirke mit Sicherheit festgestellt werden kann, ob und wie stark der Entwicklungsgrad der Keimzellen von der Norm abweicht und in welcher Entwicklungsphase sie von der Behandlung getroffen wurden. Die verschiedenen Entwicklungsstufen innerhalb der Ovariolen eines Ovars, die in der ungestörten Gonade in gleicher Höhe nebeneinander liegen und ihren stockwerkartigen Aufbau bedingen, sind im partiell agametischen Ovar gegeneinander verschoben. Es kann deshalb nicht mehr bestimmt werden, welcher Ausbildungsgrad den einzelnen Keimzellgruppen normalerweise zukommen würde. Damit bleiben manche Befunde der Beurteilung entzogen und Zusammengehörendes kann infolge der gestörten Lagebeziehung nicht erkannt

werden. Wird dagegen an aufeinanderfolgenden Entwicklungsstadien experimentiert, kann für jedes Experiment basal eine Häufung gleichsinniger, von Experiment zu Experiment jedoch verschiedener Abweichungen erwartet werden, deren Beziehung zum jeweiligen Behandlungsstadium damit klar ersichtlich ist. Umgekehrt werden mit zunehmendem Behandlungsalter gewisse Abweichungen verschwinden. So muss vor allem angenommen werden, dass von einem gewissen Zeitpunkt an keine ungeteilten Ovariolenschläuche mehr vorkommen. Liegt dieser Zeitpunkt vor dem normalen Entstehungsalter der Follikel, dann bildet das Verschwinden der ungeteilten Ovariolen den sichersten Nachweis für das Bestehen einer zeitlich begrenzten Induktionsphase der Follikelbildung.

a) *Material und Technik.*

Die Sterilisationsversuche an Ovarien des Vorpuppen-und Puppenstadiums konnten nur noch *in situ* mittelst Röntgenbestrahlung durchgeführt werden. Versuche, Vorpuppen- und Puppenovarien nach mechanischer oder UV-Behandlung zu implantieren. misslangen, da in diesem Alter die innere Festigkeit der Ovarien so gering ist, dass sie sich nicht unverletzt injizieren lassen. Die Implantate zerfallen. wodurch eine sichere Interpretation der Resultate unmöglich wird. Damit fällt allerdings die Möglichkeit weg, eventuelle Minderleistungen des somatischen Gewebes infolge der Röntgenbestrahlung durch Vergleich mit andersartigen Experimenten zu erkennen. Die Erfahrungen bei den Larvenexperimenten zeigen jedoch, dass diese Fehlerquelle wenig ins Gewicht fällt (s. S. 114).

Auch die Röntgenbestrahlungen misslangen zuerst. Von den bestrahlten Tieren (Larven, Vorpuppen, Puppen) schlüpften nur vereinzelte Imagines, obwohl sie sich äusserlich normal entwickelten. Sie liessen jedoch fast ausnahmslos die peristaltikartigen Bewegungen des Abdomens vermissen, die das Schlüpfen einleiten. Das erweckte den Verdacht auf eine Schädigung motorischer Zentren; und wirklich kann eine Schlüpfrate von 80—90% erreicht werden, wenn bei der Bestrahlung die vorderen zwei Körperdrittel abgeschirmt werden, wodurch die Ganglien der Strahlenwirkung entzogen bleiben. Alle Röntgenbehandlungen wurden deshalb in der folgenden Anordnung ausgeführt:

Ein 2 mm dickes, quadratisches Bleiplättchen von 2,5 cm Seitenlänge, versehen mit einem zentralen Fenster von 1,5 cm Durchmesser (Feldgrösse der verwendeten Röntgenröhre 2 cm Durchmesser), wurde mit Ultraphanfolie (Waser & Co, Zürich) überklebt. Die Tiere wurden mit etwas Wasser, Rücken gegen die Folie, auf dieser rund um das Fenster in der Weise festgeklebt, dass nur das hintere Körperdrittel mit den Gonaden in die Fensteröffnung hineinragte. Das Bleiplättchen wurde,

die Tiere nach unten, auf einen gläsernen Salznapf gelegt und von oben bestrahlt (Abb. 18). Auf diese Weise konnten gleichzeitig rund 50 Tiere in identischer Stellung im zentralen Bereich des Röntgenfeldes bestrahlt werden.

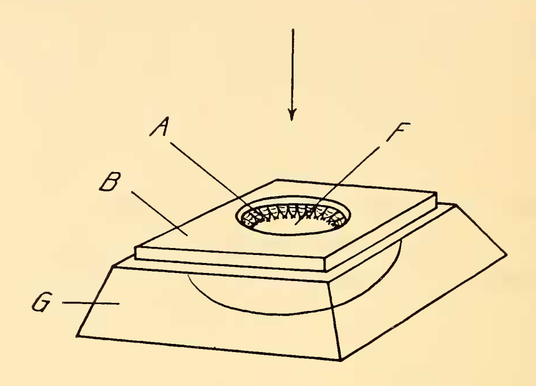


Abb. 18.
Bestrahlungsanordnung. A Abdomina; B Bleiplatte; F Fenster; G Glasnapf. Der Pfeil gibt die Strahlenrichtung an.

Die Dosen wurden in einem Male appliziert. Bestrahlt wurde mit extra weichen Strahlen (Dosisabfall 12% in 1 mm menschlicher Haut, Feldstärke 2 mA/50 kV, 1 mm-Aluminiumfilter und 18 mm Abstand). Die Minutendosis betrug 1230 r.

Es zeigte sich, dass bei den Keimzellen die Empfindlichkeit gegenüber der Bestrahlung nach der Puparisierung sinkt. Bei den Epithelialzellen besteht gegen Ende des 1. Puppentages erhöhte Empfindlichkeit. Ohne nennenswerte Somaschäden hervorzurufen, durften appliziert werden: im Alter von 7 h.n.P. 4500 r, von 24 h.n.P. 3500 r (!), von 48 h.n.P. 4500—5000 r, von 72 und 97 h.n.P. 5000—5500 r. Der Empfindlichkeitsunterschied zwischen somatischen Zellen und Keimzellen wird mit zunehmendem Alter immer kleiner. Er ist am grössten bei den verpuppungsreifen Larven, nachher fällt er ziemlich rasch ab. — Im Alter von 7—24 h.n.P. bestrahlte Tiere mussten spätestens 2—3 Tg nach dem Schlüpfen als Imagines seziert werden, da sie um diese Zeit an Darmverschluss starben. Dasselbe gilt auch für die larval bestrahlten Tiere. Die Bestrahlung muss in dieser Periode eine sensible Phase der Enddarmbildung erfassen, denn dieser war entweder nur mangelhaft ausgebildet und ohne Verbindung mit dem unmittelbar hinter den Malpighischen Gefässen blind endenden Mitteldarm, oder er fehlte vollständig. Das Mündungsgebiet der Malpighischen Gefässe war dabei in allen Fällen intakt geblieben. Dieser Befund ist verständlich, seit Poulson (1950) im Gegensatz zu früheren Autoren feststellen konnte, dass die Malpighischen Gefässe noch zur entodermalen Mitteldarmanlage gehören und die Grenze zum ektodermalen Enddarm erst distal davon liegt.

Tabelle 3.

Bestrahlungs-Alter	Dosis in r	Sektions-alter (Imago)	Anzahl der untersuchten Ovarien	Anzahl der stark reduzierten Ovarien
Larven v.P. . . .	4 500	2 Tg	41	27
7–8 h.n.P. . . .	4 500; 5 000	»	61	25
12 » . . .	3 500; 4 000	»	19	15
17½ » . . .	3 500	»	22	19
24 » . . .	3 500	»	27	16
72 » . . .	5 000; 5 500	4 Tg	45	34
Total			215	136

Zusammenstellung über Strahlendosen und Erfolgsquoten bei den mit Röntgenstrahlen behandelten Entwicklungsstadien.

Eine Zusammenstellung über Bestrahlungsalter, Dosis, Ausbeute u.s.w. gibt Tab. 3. Zur Vereinfachung seien im folgenden die im Alter von 7, 24, usw. Stunden nach der Pupariumbildung bestrahlten und am dritten Imaginaltag untersuchten Ovarien auch als adulte 7 h.n.P.—, 24 h.n.P.— usw. Röntgenovarien bezeichnet.

b) *Bestrahlung im Alter von 7—8 h.n.P. (Vorpuppen).*

Im Alter von 7—8 h.n.P. ist im Ovar eben erst der basale Abschluss der Ovariolen vollzogen und alle Oogonien sind in die Ovariolen eingeschlossen. Die ersten oocytogenetischen Umwandlungsteilungen haben eingesetzt (s. Tab. 1a, S. 103).

Die äussere Entwicklungsleistung und das histologische Bild der adulten 7—8 h.n.P.-Röntgenovarien weisen gegenüber den larval behandelten nur geringfügige Unterschiede auf. Der Schädigungsgrad variiert wenig. Alle anormalen Bildungen, die bei den larval behandelten Ovarien beschrieben wurden, darunter als wichtigste die ungeteilten agametischen Ovariolenschläuche, treten in gleicher Weise auch hier auf. Neu ist bei den praepupal bestrahlten Ovarien eine gewisse Tendenz zur Verschmelzung der Ovariolenbasen. Mehrfach sind mit den Basisstielen verbundene agametische Ovariolen gefunden worden. In einem Fall münden zwei sonst agametische Ovariolen in den ersten Basalfollikel einer dritten Ovariole, die Keimzellen führt. Die sonst äusserst strenge Isolierung zwischen den einzelnen Ovariolen ist hier gestört. Die Bildung der

Basisstiele und der Basalfollikel erfolgt erst nach der Bestrahlung (s. Abb. 2, b und e). Es gehen ihr Mitosen der Epithelialzellen voraus. Die Missbildungen der Basis dürften damit in Zusammenhang stehen. Infolge der regeren Mitosetätigkeit im basalen Bereich wird hier eine erhöhte Empfindlichkeit der Epithelialzellen gegenüber Röntgenstrahlen bestehen.

Interessanter als die Verschmelzungen an der Basis sind agametische Ovariolen, bei denen eine Art „unechter Follikelbildung" stattgefunden hat. (Abb. 19, Pf). Sie weisen mehrere Einschnürungen (E) auf. Es werden jedoch weder richtige Follikel noch richtige, zellig gegliederte Follikelstiele ausgebildet. Die Interpretation ist nicht einfach. Diese Ovariolen sind nur wenigzellig, ihre Endfilamente sind relativ breit. Nach diesen Merkmalen handelt es sich um wenig weit entwickelte Ovariolen. Sind die Einschnürungen dadurch entstanden, dass Zellen sich nach der Bestrahlung aufgelöst haben, oder kündigt sich hier eine erste, noch unvollständige Induktionswirkung der Keimzellen an ?

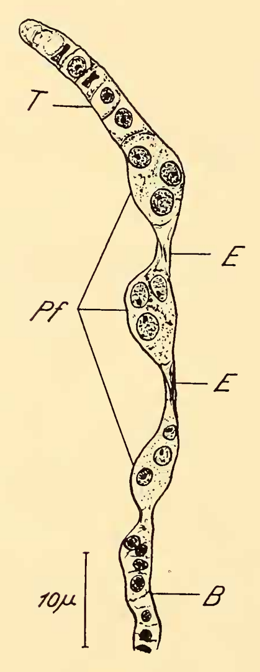


Abb. 19.
Agametische Ovariole mit Pseudofollikeln aus einem adulten 8 Std.n.P.-Röntgenovar. B Basalstiel; E Einschnürungen; Pf Pseudofollikel; T Terminalfilament. Längsschnitt.

Bei etlichen agametischen Ovariolen ist der erste Basalfollikel abgeschnürt. Diese Follikel enthalten aber alle noch Überreste von Keimzellen. Offenbar haben sich hier Keimzellen nach der Bestrahlung noch weit genug entwickeln können, um die Bildung des ersten Follikels anzuregen. Die grosse Zahl völlig ungeteilter Ovariolen spricht hingegen nicht dafür, dass die Keimzellen im Moment der Bestrahlung basal zur Induktion schon fähig gewesen waren.

Die Befunde an dieser Serie bestätigen die in der Diskussion des vorigen Kapitels (s. S. 145) geäusserte Vermutung, wonach vor dem Einschluss der Keimzellen in die Ovariolen keine Follikelinduktion erfolgt.

c) *Bestrahlung im Alter von 24 h.n.P.*

Im Alter von 24 h.n.P. enthalten die Puppenovarien fertig gebildete, aber noch ungeteilte Ovariolen (s. Abb. 2d). Basal, in den fortgeschrittenen Ovariolen bis gegen die Mitte hin, sind die oocytogenetischen Umwandlungsteilungen beendet. Frisch gebildete Oocyten I sind an ihrer geringen Grösse (Grössenklasse I, s. S. 106) ohne weiteres zu erkennen. Heranwachsende Oocyten I können dagegen von Oogonien oder Umwandlungszellen erst wieder unterschieden werden, wenn sie die Oogoniengrösse überschritten haben, bzw. wenn die Eizelle morphologisch von den übrigen Keimzellen abweicht.

In diesem Entwicklungsstadium bestrahlte Ovarien zeigen adult gegenüber den mit 7—8 h.n.P. oder früher behandelten einen ganz andern Zustand. Während bis dahin die ungeteilten agametischen Ovariolen das beherrschende Strukturelement sind, fehlen solche jetzt bis auf zwei Ausnahmen. Alle Ovariolen sind mindestens basal in Follikel unterteilt. Diese generelle Follikelbildung ist insofern nicht auffallend, als alle Ovariolen noch Keimzellen enthalten. Die relativ niedrige Dosis von 3500 r, welche ohne Schädigung des somatischen Gewebes appliziert werden durfte, reichte in diesem Alter nicht zur Auflösung der Keimzellen aus. Wir mussten uns damit begnügen, deren möglichst vollständige Entwicklungshemmung zu erreichen. Eine grosse Anzahl Ovariolen enthält basal und in der Mitte wenigstens noch z.T. die kleinen Oocyten I des Bestrahlungsstadiums. Aber auch diese Ovariolen haben basale Follikel, obwohl die Keimzellen das Entwicklungsstadium, das sie normalerweise zu Beginn der Follikelbildung einnehmen, noch nicht erreicht haben. Auf alle Fälle fehlen an vielen Orten distinkte Eizellen, wie sie zur Zeit der Follikelbildung vorhanden sein sollten (s. Abb. 2e). (Das Fehlen distinkter Eizellen ist allerdings kein ganz sicherer Beweis dafür, dass sich die Keimzellen hier nicht bis zu ihrem richtigen Stadium entwickelt haben. Die Eizellen könnten selektiv geschädigt und resorbiert sein. Die genauere Analyse eines Follikels mit zu jungen Keimzellen folgt auf S. 154 ff.)

Neben den mehr oder weniger vollständig in ihrer Entwicklung gehemmten Keimzellen kommen wie in den partiell agametischen Ovarien der Larvenexperimente auch alle Altersstufen anscheinend

normaler oder pyknotisch veränderter Keimzellen vor. Es können auch apicaler liegende Keimzellen, d.h. gemäss der von unten nach oben fortschreitenden Entwicklung des Ovars jüngere Keimzellen, sich weiter entwickelt haben als basaler gelegene der gleichen

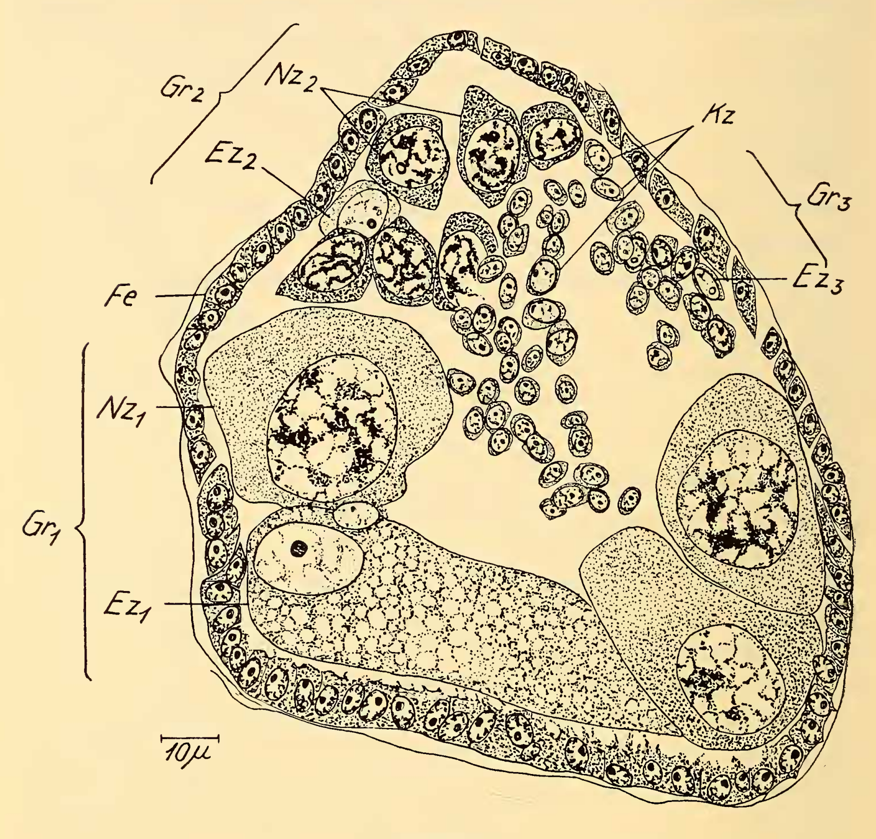


Abb. 20.

Sammelfollikel aus einem adulten 24 Std.n.P.-Röntgenovar. Drei Nachbarschnitte kombiniert. Ez_{1-3} Eizellen der Keimzellgruppen 1—3; Fe Follikelepithel; Gr_{1-3} Keimzellgruppen; Kz junge Keimzellen vor der morphologischen Differenzierung in Eizellen und Nährzellen; Nz_{1-3} Nährzellen der Keimzellgruppen 1—3. Längsschnitt.

Ovariole. Sie müssen sich im Moment der Bestrahlung in einer weniger sensiblen Periode als die älteren befunden haben, die eventuell noch mitten in der Phase der Umwandlungsteilungen getroffen wurden.

Wenn also infolge der Anwesenheit von Keimzellen die Tatsache der Follikelbildung an und für sich nicht ohne weiteres bemerkenswert ist, so fällt umso mehr der Ausbildungsgrad und die Zusammensetzung dieser Follikel auf. Normal gebildete Follikel sind in der Minderzahl. Zwar sind die Follikelepithelien typisch ausgebildet. Sie umschliessen aber nicht nur vielfach zu junge Keimzellen, sondern in den meisten Fällen auch mehr als eine Sechzehnergruppe von Keimzellen. Sie seien deshalb als Sammelfollikel bezeichnet. Der in Abb. 20 dargestellte Sammelfollikel enthält z.B. drei distinkte Eizellen (Ez_{1-3}). In andern wurden bis vier Eizellen gezählt. Wahrscheinlich kommen auch noch mehr vor, doch ist ihre Anzahl nur dort sicher feststellbar, wo die Eizellen von der übrigen Oocyten I schon morphologisch verschieden sind. Die verschiedenen Keimzellgruppen stimmen im Entwicklungsgrad meist nicht überein. Der Sammelfollikel von Abb. 20 enthält nebeneinander eine älteste Gruppe (Gr_1) des IV. Follikelstadiums (s. S. 112) mit dotterhaltiger Eizelle (Ez_1), eine jüngere Gruppe (Gr_2), die am Beginn der endomitotischen Teilungen in den Nährzellen steht (Nz_2) und eine weitere (Gr_3), bei der die Eizelle eben als solche zu erkennen ist (Ez_3). Ausser diesen drei Gruppen enthält der Follikel noch eine grosse Zahl weiterer Keimzellen (Kz) von der Grösse frisch gebildeter Oocyten I bis zu der Grösse von Oogonien; d.h. Keimzellen, die entweder Oogonien, Umwandlungszellen oder heranwachsende Oocyten I sind. Dass sogar Oogonien wie auch Umwandlungszellen darunter sein können, zeigt die Tatsache, dass in einigen Follikeln Mitosen, und zwar sowohl Einzelmitosen als auch Zweier-, Vierer- und Achter-Mitosegruppen zu finden sind. In extremen Fällen können kleinste, frisch entstandene Oocyten I zwischen eine grosse dotterhaltige Eizelle und ihre Nährzellen eingeklemmt sein. In ein paar Follikeln werden zwei Eikerne von der gleichen Plasmamasse umschlossen. Es kommt auch vor, dass von zwei sich gegenüberliegenden Eizellen beide Dotterschollen gebildet haben. Bei zu Ende geführter Entwicklung muss deshalb die Bildung von Zwillings-, bzw. bei noch mehr Eizellen, von Drillings- und Vierlingseiern erwartet werden. In der Tat wurden mehrmals reife Eier mit Einschnürungen, die durch eine Plasmaverdichtung ähnlich einer Naht in zwei Hälften gesondert waren, gefunden. Leider sind die Eikerne auf diesem Stadium aufgelöst und die

Chromosomen konnten nicht gefunden werden, so dass nicht nachgewiesen werden kann, ob es sich dabei wirklich um Zwillingseier handelt.

Die Follikelepithelien sind meist gut ausgebildet. Wo höher entwickelte Keimzellen vorhanden sind, entspricht die Epitheldicke durchschnittlich dem Entwicklungsstand der ältesten Keimzellgruppe des Follikels. Es kommen häufig aber auch beträchtliche Abweichungen vor. Besonders in Follikeln mit jungen Keimzellgruppen sind die Epithelien meist ganz bedeutend weiter entwickelt, und die Dimensionen des ganzen Follikels sind viel grösser, als dem Stand der eingeschlossenen Keimzellen entspricht.

Obwohl also die Keimzellen in diesem Alter durch die Bestrahlung nicht mehr entfernt werden konnten, ist doch eindrücklich zu sehen, dass die Follikelbildung eigene Wege gegangen ist. Die Keimzellen sind zum grossen Teil in ihrer Entwicklung durch die Follikelepithelbildung „überrannt" worden, wobei sie wahllos in die sich bildenden Follikel eingeschlossen wurden. An Stelle normaler Follikel sind dadurch in der Mehrheit Sammelfollikel entstanden. Diese Fehlentwicklung deckt noch eindeutiger den mosaikartigen Charakter auch der spätern Phasen der Follikelentwicklung auf, als es der Nachweis des Korrelationszerfalles zwischen Follikelepitheldicke und Eikerngrösse vermochte (s. S. 136 ff).

Besonders interessant ist die Ausbildung einer randständigen Ovariole (Abb. 21) in einem stark reduzierten Ovar, von dessen rund 30 Follikeln nicht ein einziger normal gebildet ist (vergl. auch Bucher, 1951). Die abgebildete Ovariole ist in drei Follikel gegliedert, an die ein kurzes Germarium anschliesst. Alle drei Follikel enthalten eine grosse Zahl kleiner Eizellen mit Kernen der Grössenklassen I—IV (s. S. 106). Im abgebildeten Schnitt des Basalfollikels liegen z.B. 6 Kerne der Grössenklasse IV (Oogoniengrösse; oben Mitte), 2 Kerne der Klasse III, 5 Kerne der Klasse II und 8 Kerne der Klasse I (links unten, unmittelbar neben dem Winkel des unteren bezeichneten Chorionbogens sind zwei davon in der Photo sichtbar). Der ganze Follikel enthält vermutlich zwei Sechzehnergruppen dieser kleinsten Grössenklasse, d.h. zwei Gruppen frisch entstandener Oocyten I. Dazu kommen zwei Kerne, die etwas grösser als Oogonienkerne sind. Distinkte Eizellen fehlen in allen

drei Follikeln; der erste und zweite Follikel enthalten jedoch am Grunde je eine Zelle, die Eizellen sein könnten. Sie unterscheiden sich aber nicht genügend von den andern Oocyten, als dass sie sich sicher identifizieren liessen. Weiter enthalten in andern Schnitten: der erste Basalfollikel apical eine grosse einzelne Metaphasenplatte, der zweite Follikel im Zentrum eine grosse einzelne Anaphase und der dritte Follikel einen grossen einzelnen Diaster. Somit um-

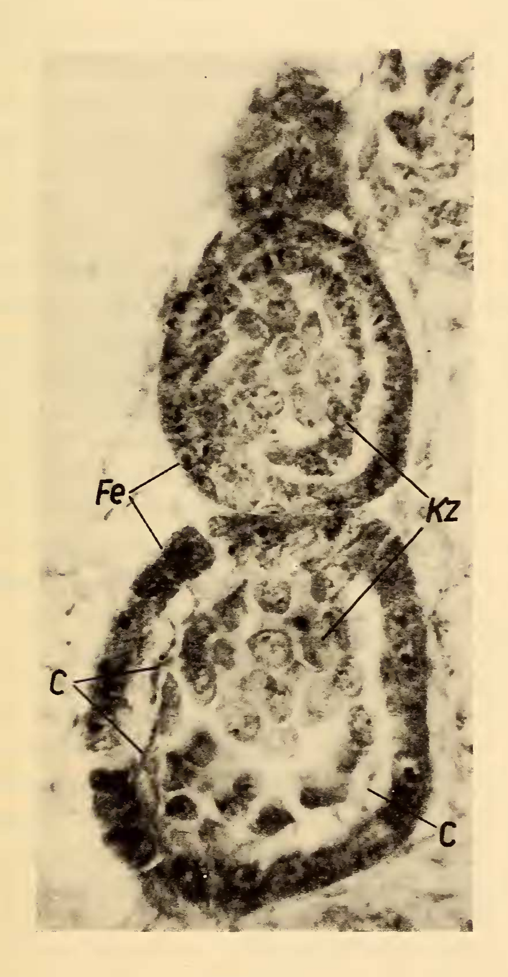


Abb. 21.

Sammelfollikel mit jungen Keimzellen und Chorionsekretion aus einem adulten 24 Std.n.P. - Röntgenovar. C Chorion; Fe Follikelepithel; Kz Keimzellen. Längsschnitt. Mikrophoto, Vergr. ca. 835 ×.

schliessen die drei Follikel, sicher feststellbar, als jüngste Keimzellen Oogonien, die in erster oocytogenetischer, oder sogar noch oogonialer Teilung begriffen sind; als älteste Keimzellen dagegen Oocyten I unmittelbar nach ihrer Entstehung. Dazu kann angenommen werden, dass unter den Keimzellen mit Kernen der Grössenklassen II—IV und grösser, sich sowohl Oogonien und Umwandlungszellen als auch heranwachsende Oocyten I befinden, wobei letztere sehr wahrscheinlich das Stadium unmittelbar vor dem Sichtbarwerden der Eizellen erreicht haben. Das heisst, *dass die ältesten Keimzellen sich noch nicht, oder nur ganz knapp bis zum Stadium entwickelt haben, das sie normalerweise zu Beginn der Follikelbildung zeigen sollten* (s. S. 109). Umso auffallender ist deshalb die Ausbildung des Follikelepithels, vor allem in den zwei untersten Follikeln. Im Basalfollikel hat das Epithel über seinen ganzen Umfang hin eine relative Dicke von 20 Masseinheiten (1 E = 23 μ, s. Abb. 5, S. 111) erreicht, im zweiten Follikel eine solche von 12—15 Masseinheiten. Der Dicke von 20 entspricht das Follikelstadium IV (s. Abb. 5). Apical ist in einem solchen Follikel dabei das Epithel bereits wieder in fortgeschrittener Reduktion. Das Epithel des zweiten Follikels ist noch nicht ganz bis zur Dicke des IV. Stadiums herangewachsen. Mit seiner Dicke von 15 nimmt es eine mittlere Stufe zwischen Stadium III (Dotterhöhe o, maximale Epitheldicke 11) und Stadium IV ($1/4$ Dotterhöhe, minimale Epitheldicke 18) ein. Im dritten Follikel beträgt die Epitheldicke immer noch 6—8, entspricht also dem Stadium II (Rosettenfollikel, Epitheldicke 7—9).

Von besonderer Wichtigkeit ist nun die Tatsache, dass *das Epithel des Basalfollikels nicht nur übermässig dick geworden ist, sondern dass offensichtlich die Epithelzellen auch den physiologischen Zustand erreicht haben, der dieser Dicke entspricht.* Über den ganzen Umfang des Follikelepithels ist nämlich zwischen diesem und den Keimzellen, teils den Keimzellen angeschmiegt, teils in Bögen vor den Epithelzellen liegend und sich wie ein Abguss von ihnen lösend, eine homogene Masse zu erkennen, die sich mit Chromotrop anfärbt (Abb. 21, C). *Diese Masse kann ihrer Lage, Ausbildung und Färbbarkeit nach nichts anderes*

als sezerniertes Chorionmaterial sein. Obwohl also (s. S. 156) die ältesten der eingeschlossenen Keimzellen im besten Fall den Entwicklungsgrad aufweisen, den sie normalerweise schon 2½ Tg.n.P., d.h. zu Beginn der Follikelabtrennung, zeigen sollten, haben sich die Epithelialzellen bis zum Stadium der Chorionsekretion, welche basal erstmals während des ersten Imaginaltages erfolgt, weiter differenziert. Sie haben damit ihr höchstes Entwicklungsstadium erreichen können, denn auf die Chorionsekretion erfolgt im Normalfall die Regression des Follikelepithels. Es ist zwar nicht eine geschlossene Chorionkapsel entstanden, sondern es sind mehrere, unzusammenhängende Platten gebildet worden. Das ist beim Fehlen einer glatten Anlagerungsfläche jedoch nicht erstaunlich. Zum Teil mag die Auflösung der Lamelle auch ein Artefakt sein. Die Ablösung von den Epithelzellen spricht für gewaltsame Vorgänge infolge starker Schrumpfung. Der Schrumpfungsraum ist in Follikeln mit zu jungen Keimzellen stets grösser als in Follikeln mit korrelierter Entwicklung. Von der typischen mehrschichtigen Chorionstruktur ist noch nichts zu erkennen, doch tritt diese auch normalerweise erst in älteren Follikeln mit noch dickerem Epithel auf. Im gleichen Ovar, wie auch in seinem Schwesterovar sind noch weitere Follikel zu finden, die unter ähnlichen Bedingungen Chorion sezerniert haben. Auch an vielen andern Stellen ist Chorionbildung wahrscheinlich, nur konnte sie nirgends mehr mit der gleichen Klarheit beobachtet werden.

Das vollständige Verschwinden der ungeteilten Ovariolen bei den adulten 24 h.n.P.-Röntgenovarien lässt im Verein mit der selbständigen Entwicklung der Follikelepithelien schliessen, dass zwischen 8 und 24 h.n.P. die Induktion der Follikelbildung erfolgt. Wenn die Induktion erst durch Keimzellstadien möglich wäre, die einem höhern Alter als 24 h.n.P. entsprechen, müssten noch ungeteilte Ovariolen oder doch wenigstens ungeteilte Abschnitte an Ovariolen zu finden sein, da ja eine grosse Anzahl von Keimzellen sich nicht über das Bestrahlungsstadium hinaus entwickeln konnten. Ebenso wäre dann unverständlich, dass gerade in den Follikeln mit klein gebliebenen Keimzellen, d.h. bei starker Schädigung der Keimzellen, das Missverhältnis zwischen Follikelepithelentwicklung und Keimzellentwicklung am grössten ist. Es müssten in den stark reduzierten Ovarien die „normaleren“ Follikel gefunden werden. Gerade das

ist aber nicht der Fall, wie das Beispiel des Ovarpaares zeigt, aus dem die Ovariole von Abb. 21 stammt. Der Beginn der Induktionsphase muss also in die Zeit zwischen 8 und 24 h.n.P. fallen. Dagegen ist es aus diesen Befunden nicht möglich, auch ihr Ende zu bestimmen. Da die Keimzellen nicht zerstört, sondern nur in der Entwicklung gehemmt wurden, kann nicht entschieden werden, ob es sich um einen befristeten Vorgang handelt, oder ob eine dauernde Beeinflussung der Epithelialzellen durch die Keimzellen erfolgen muss. Dieser Einfluss müsste dann allerdings auch von ganz jungen Keimzellen in genügender Weise ausgeübt werden können (s. Abb. 21).

Zwischen 7 und 24 h.n.P. verlaufen im Ovar die Umwandlungsteilungen der Oogonien zu Oocyten I (s. Tab. 1a). Sofern man nicht einfach annehmen will, dass die Keimzellen das somatische Gewebe ständig induktiv beeinflussen und die Induktionsphase allein durch die Kompetenzphase der Epithelialzellen begrenzt wird (wie sich später zeigen wird, spielt die Kompetenzfrage höchstens eine untergeordnete Rolle, s. S. 182), ist damit die Frage gestellt, welche der Entwicklungsstadien der Keimzellen induzierend wirken; sind es die reifen Oogonien, die Umwandlungszellen oder erst die Oocyten I ? Die beiden nachfolgenden Untersuchungen an Stadien zwischen 8 und 24 h.n.P. sollen darüber Aufschluss geben, wobei vor allem zwei Fragen im Vordergrund stehen werden:

1. Wie lange sind ungeteilte agametische Ovariolen zu finden ?
2. Von wann an treten Sammelfollikel auf ?

Für diese Zwischenuntersuchung wurden gewählt:

d) *Bestrahlungen im Alter von 12 und 17½ h.n.P.*

Mit 12 h.n.P. sind die Keimzellen der Ovariolenbasen in voller Umwandlung zu Oocyten I begriffen. Wie Tab. 1a, S. 103 zeigt, werden mit 12 h.n.P. basal im Ovar Zweier- und Vierer-Mitosegruppen gefunden. Dabei ist für die Zweier-Mitosegruppen die Periode grösster Häufung schon überschritten, während für die Vierer-Mitosegruppen das Ende der ausgeprägtesten Häufungsperiode erreicht ist. Basale Achter-Mitosegruppen treten ab 9 h.n.P. auf. Ihre Häufung erfolgt jedoch erst zwischen 13 und 17 h.n.P. Es sind basal also hauptsächlich Umwandlungszellen der Grössenklasse II zu finden (s. S. 106 ff). In geringerem Masse enthalten die Ovariolenbasen auch schon Oocyten I (vergl. auch Tab. 1b).

Bei 17 h.n.P. Ovarien sehen wir basal und median viele Achter- u. Vierer-Mitosegruppen (Tab. 1a). Für beide fällt die Häufigkeit danach basal rasch ab, während Zweier-Mitosegruppen schon seit längerer Zeit nur noch spärlich vertreten sind und bald ganz verschwinden. Um diese Zeit müssen basal also vorwiegend Oocyten I vorhanden sein, Umwandlungszellen dagegen sind schon selten (Tab. 1b). Auch median sind neben Umwandlungszellen schon viele Oocyten I zu finden.

Durch die Bestrahlungen im Alter von 12 und 17½ h.n.P. entstanden wieder partiell agametische Ovarien. Dadurch fallen die Schwierigkeiten weg, die sich bei den adulten 24 h.n.P.-Röntgenovarien für die Interpretation der Resultate ergaben, weil die Keimzellen nicht entfernt werden konnten.

Bei den 12 h.n.P.-Ovarien enthalten von den 15 stark reduzierten Gonaden (s. Tab. 3) deren 14 mehrere bis viele ungeteilte agametische Ovariolen, wie sie zuletzt noch bei den 7—8 h.n.P.-Röntgenovarien gefunden wurden. Zum Teil weisen diese agametischen Ovariolen gegenüber den früher erhaltenen (Abb. 12, 13) jedoch wichtige Abweichungen auf. Einige sind beträchtlich grösser als alle bisher entstandenen (Abb. 22a, 23a, b). Die in Abb. 22a dargestellt Ovariole ist z.B. etwa doppelt so lang als die grossen agametischen Ovariolen von Abb. 12 (der Umriss der rechts liegenden Ovariole von Abb. 12 ist zum Vergleich in der selben Vergrösserung in Abb. 22 (c) eingezeichnet). Nach der Ausbildung des Basisstieles (B) und des Endfilamentes (T) zu schliessen, hat sie dabei noch nicht ganz den Entwicklungsgrad jener Ovariolen erreicht (s. S. 125 sowie Abb. 2, 14). Grösse und Aussehen der ungeteilten agametischen Ovariolen entsprachen bis dahin den ungeteilten Ovariolen aus primär agametischen Ovarien (s. S. 127). Der Grössenunterschied kann also nicht auf stärkerer oder schwächerer Schädigung des somatischen Gewebes beruhen. Manche Ovariolen sind auch stark keulig verbreitert (Abb. 23b). Statt der enggedrängten und im Bereich der Germarien (G) spindelförmigen Zellen (Abb. 12) haben sie lockerstehende, sternförmige Zellen mit elliptischen bis kugeligen Kernen. Auch die grosse Ovariole von Abb. 22a ist so gebildet. Die keulenförmige Ovariole der Abb. 23b ist dabei jünger als die schmalen Ovariolen von Abb. 12 und nur wenig älter als die schmale Ovariole von Abb. 23a aus der gleichen Experimentenreihe, wie der Vergleich der Endfilamente (T) und der Basisstiele (B) zeigt.



Abb. 22.

Agametische Ovariole aus einem adulten 12 Std.n.P.-Röntgenovar. a: Längsschnitt der Ovariole. b: Nachbarschnitt, die Wand der Ovariole bei der Einschnürung zeigend. c: Umriss der aussen rechts liegenden agametischen Ovariole von Abb. 12 in der selben Vergrösserung wie a und b. B Basalstiel; E Einschnürung; T Terminalfilament.

Im Zentrum der keulig erweiterten Ovariolen liegen oft pyknotische Reste von Keimzellen. Bei einigen ist zudem der Beginn einer Einschnürung zu beobachten. Meist ist es der Ansatz zur Bildung des ersten Basalfollikels. Die Einschnürung kann aber auch apicaler liegen, wie dies bei der Ovariole von Abb. 22a (E) zu sehen ist.

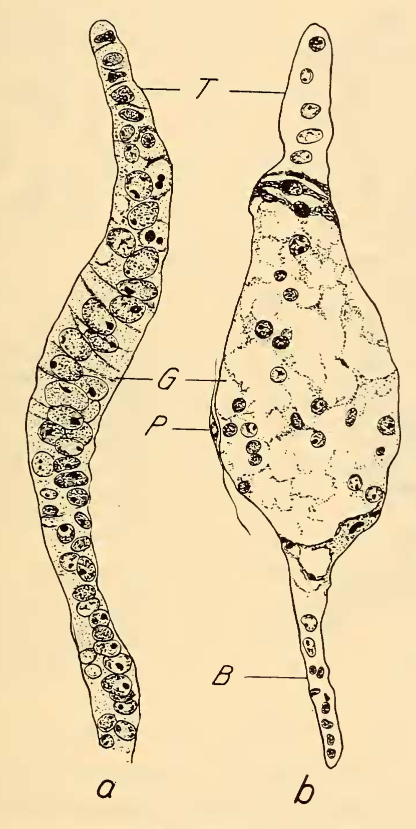


Abb. 23.

Agametische Ovariolen aus adulten 12 Std.n.P.-Röntgenovarien. a: schmale Ovariole. b: keulenförmige Ovariole. B Basalstiel; G Germarium; P Peritonealhülle; T Terminalfilament. Längsschnitte. Vergr. wie Abb. 22.

Im Bereich der Einschnürung scharen sich enggedrängt spindelförmige Epithelialzellen (Abb. 22b). Nach ihrer Anordnung können sie sowohl in diese Gegend eingewandert sein, wie auch an dieser Stelle der Auflockerung widerstanden haben. Die Lage der Einschnürung selber muss im Zusammenhang mit der Lage derjenigen

Keimzellen stehen, die nach der Bestrahlung den nötigen Reifegrad zur Follikelinduktion erreichen konnten.

Den wichtigsten Befund bei den adulten 12 h.n.P.-Röntgenovarien aber lieferten drei agametische Ovariolen aus zwei verschiedenen Gonaden. Diese agametischen Ovariolen sind in Follikel

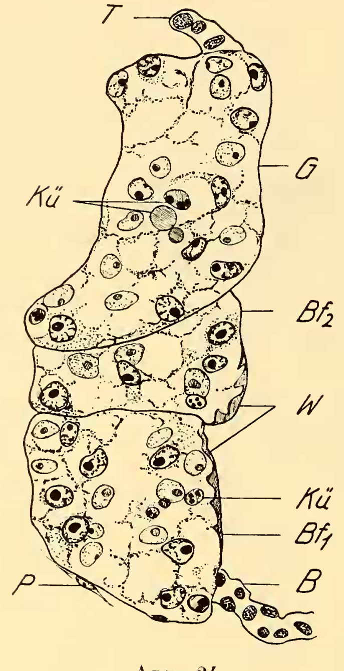


Abb. 24.

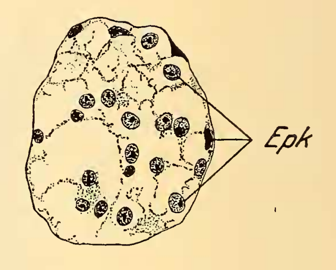


Abb. 25.

Abb. 24. — Follikelbildung bei einer agametischen Ovariole aus einem adulten 12 Std.n.P.-Röntgenovar. B Basalstiel; Bf_{1-2} 1. und 2. Basalfollikel; G Germarium; Kü Keimzellüberreste; P Peritonealhülle; T Terminalfilament; W Wandverdickung. Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 22.

Abb. 25. — Germariumähnlicher agametischer Follikel aus einem adulten 17 ½ Std.n.P.-Röntgenovar. Epk Epithelialzellkerne. Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 22.

unterteilt! An die Stelle der agametischen Ovariolenschläuche sind agametische Follikel getreten. Bei der in Abb. 24 dargestellten Ovariole sind der 1. und 2. Basalfollikel (Bf_1, Bf_2) vom Germarium (G) abgetrennt. Die Bezeichnung Follikel gilt hier allerdings nur noch bedingt, da die Epithelialzellen keinen eigentlichen Hohlraum umschliessen, sondern als grosse, stark vakuolisierte Zellen eine mehr oder weniger volle (durch die reifenden Nachbarfollikel verformte) Kugel bilden. Abgesehen davon, dass die Kerne hauptsächlich randständig liegen, sind keine Anzeichen einer Epithelbildung vorhanden. Die Abtrennung der Follikel ist als isolierter Vorgang erfolgt. Erwähnenswert ist die Umhüllung der tauben Follikel. Sie wird von einer sich

stark mit Chromotrop anfärbenden Substanz gebildet und weist lichtbrechende Verdickungen auf (Abb. 24, W). Dadurch wird der Follikel von einer Art Kapsel umschlossen, die in ihrer Färbbarkeit an Chorion erinnert. Da in den Follikelzellen aber keinerlei Anzeichen einer sekretorischen Tätigkeit zu finden sind, muss es sich um eine andere Bildung handeln.

Adulte 17½ h.n.P.-Röntgenovarien.

Nur noch 5 der 19 stark reduzierten Ovarien weisen ungeteilte Ovariolenschläuche auf. Die meisten davon sind keulig verbreitert und zeigen basale Einschnürungen. Sonst sind basal und median, soweit agametische Ovariolen vorliegen, taube Follikel verschiedener Ausbildung zu finden. Viele sind vom Aussehen der tauben Follikel von Abb. 24. Sie haben eine dicke, sich stark rot anfärbende Wand und die Kerne ihrer Epithelialzellen sind gross und haben einen deutlichen Nucleolus und chromatische Strukturen wie die Kerne in normalen Follikel e p i t h e l i e n . Diese tauben Follikel haben z.T. einen beträchtlichen Umfang und einige sind echte Follikel, d.h. die Epithelialzellen umschliessen ein deutliches Lumen, ohne aber ein kubisches Epithel zu bilden.

Neben den g r o s s k e r n i g e n tauben Follikeln kommen aber auch k l e i n k e r n i g e Follikel vor, die wie abgekugelte Germarien aussehen (Abb. 25). Eine zarte Haut mit sehr spärlichen Kernen umschliesst Gruppen von Epithelialzellen. Die Kerne dieser Epithelialzellen färben sich mehr oder weniger homogen dunkel an. Die Ähnlichkeit zwischen dem Follikel von Abb. 25 und der keulig verbreiterten Ovariole von Abb. 23b ist augenfällig. Diese g e r m a r i e n ä h n l i c h e n F o l l i k e l lassen sich mit keinem Normalstadium vergleichen. Es kommt niemals vor, dass ein Normalfollikel rundum dünnhäutig begrenzt ist und Epithelialzellen im Innern enthält. Noch bevor ein Follikel sich vom Germarium abkugelt, hat basal die Bildung des kubischen Epithels eingesetzt, und nur die Trennungswand gegen das Germarium erscheint im Anfangsstadium als dünne Membran. Dadurch erhalten die entstehenden Follikel ihre charakteristische, becherförmige Gestalt (s. Abb. 2e, f). Bei den germarienähnlichen Follikeln aber ist die vollständige Abkugelung ohne jeden Ansatz zur Follikelepithelbildung erfolgt. Von dieser abnormen Differenzierung bestehen sowohl zu den grosskernigen tauben Follikeln der Abb. 24 wie auch zu den Normalfollikeln Übergangsformen. Es wurden verschiedene

germarienähnliche Follikel gefunden, deren Kerne eine mittlere Grösse zwischen denen von Abb. 24 und Abb. 25 aufweisen. Auch ihre Struktur entspricht einem Zwischenstadium. Die grosskernigen tauben Follikel sind also ein fortgeschrittenes Stadium der germarienähnlichen Follikel. Obwohl gar keine Epithelbildung erfolgte, gleichen ihre Kerne denen höher entwickelten Follikelepithels, während die Kerne der germarienähnlichen Follikel denen unentwickelter Epithelialzellen von ungeteilten agametischen Ovariolen gleichen (Abb. 12, basaler Abschnitt). Wenn die germarienähnlichen Follikel noch Keimzellen enthalten, so haben sich je nach Alter und Zustand dieser Keimzellen mehr oder weniger Epithelialzellen zu einem Ansatz von kubischem Epithel zusammengefunden. Daraus ist zu sehen, dass die Zellen der germarienähnlichen Follikel noch weiter entwicklungsfähig sind. Also ist die Bildung der Follikelepithelien nicht etwa deshalb ausgefallen, weil die Epithelialzellen durch die Bestrahlung blockiert wurden, sondern weil ihnen der nötige Anstoss dazu gefehlt hat.

Sammelfollikel kommen sowohl bei den 12 wie bei den 17½ h.n.P.-Ovarien nur vereinzelt und meist nicht basal vor.

e) *Zusammenfassung und Ergebnis.*

1. Die ungeteilten agametischen Ovariolen kommen vor, solange im Moment der Bestrahlung höchstens Oogonien und Umwandlungszellen vorhanden sind (-8 h.n.P.-Röntgenovarien).

2. Veränderungen an den ungeteilten agametischen Ovariolen treten auf, sobald vor der Behandlung auch Oocyten I mit den Epithelialzellen in Kontakt gekommen sind. Die Veränderungen betreffen die Grösse und die Form der agametischen Ovariolen und das Aussehen der Epithelialzellen. Zugleich entstehen vereinzelt agametische Follikel. (12 h.n.P.-Röntgenovarien).

3. Die generelle Follikelbildung (aber noch ohne Entwicklung von Follikelepithel) und damit das Verschwinden der ungeteilten agametischen Ovariolen fallen zusammen mit dem Verschwinden der Umwandlungszellen (basal) aus den zur Bestrahlung kommenden Ovarien (17½ h.n.P.-Röntgenovarien).

4. Die allgemeine, unabhängige Entwicklung der Follikelepithelien (Bildung von Sammelfollikeln) erfolgt erst, wenn

Keimzellen länger als bis 17½ h.n.P. auf die Epithelialzellen einwirken konnten (24 h.n.P.-Röntgenovarien).

5. Die einmal angeregt Entwicklung des Follikelepithels kann das Stadium der Chorionsekretion erreichen, auch wenn sich die eingeschlossenen Keimzellen bestenfalls bis zum Stadium unmittelbar vor der Follikelabtrennung entwickeln.

Aus diesen Ergebnissen lassen sich die folgenden Schlüsse ziehen:

1. Eine induzierende Wirkung der Keimzellen auf die Epithelialzellen erfolgt erst, wenn das Stadium der Oocyten I erreicht ist.

2. Die Induktion der Follikelbildung erfolgt in drei getrennten Schritten:

a) Wachstumsimpuls. Dieser dürfte von den Keimzellen sofort nach ihrer Umwandlung zur Oocyte I ausgehen, d.h. basal ab 9 h.n.P., da die Vergrösserung der Ovariolen fast gleichzeitig mit dem Erscheinen der Oocyten I auftritt.

b) Induktion der Follikelabschnürung. Sie führt in unserem Experiment zu den tauben Follikeln der adulten 17½ (und 12) h.n.P.-Röntgenovarien und erfolgt basal zwischen ca 12 und 17½ h.n.P.

c) Induktion der Follikelepithelbildung. Sie erfolgt einige Zeit nach der Induktion der Follikelabschnürung. Nur so ist verständlich, dass die germarienähnlichen Follikel massenweise gefunden wurden. Basal setzt sie zwischen 17½ und 24 h.n.P. ein. Offen bleiben muss die Frage, ob auch dieser letzte Schritt ein kurzbefristeter Induktionsvorgang ist, oder ob die Entwicklung des Follikelepithels nur unter einer dauernden Beeinflussung erfolgt. In letzterem Falle wären die Keimzellen schon vor dem zur Zeit der Epithelbildung erreichten Stadium fähig, diesen Einfluss hinreichend auszuüben (s. S. 156, 158).

Dass Follikelabtrennung und Follikelepithelbildung nicht nur durch zwei getrennte Induktionsvorgänge ausgelöst werden, sondern überhaupt voneinander unabhängige Geschehnisse sind, zeigte sich in einem larval bestrahlten Ovarium, und zwar an einer ungeteilten Ovariole mit Endfilament, grossem Germarium und einem

basalen Schlauchstück, das aus vielen dicht gepackten kleinen Zellen besteht. Der Basisstiel fehlt. Das Germarium ist gegen das fast lumenlose Basisstück, in dem keine Keimzellen liegen, deutlich abgesetzt. Es enthält viele, aber lauter kleine Keimzellen bis zu Oogoniengrösse (Abb.26, Kz). Distinkte Eizellen konnten keine gefunden werden. Auffallend ist nun die Ausbildung der Epithelialzellen. An der Ovariolenbasis verhielten sie sich genau so wie in

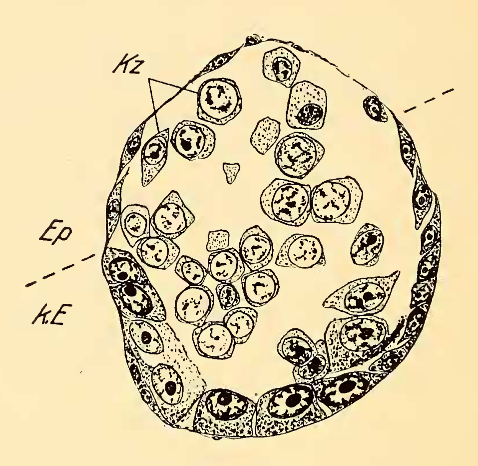


Abb. 26.

Germarium mit teilweiser Bildung von kubischem „Follikel"-Epithel aus einem larval bestrahlten Ovar. Schief quergeschnitten. Oberhalb der gestrichelten Linie wird die Germariumwand von unentwickelten Epithelialzellen (Ep), unterhalb der gestrichelten Linie von kubischem Epithel (k.E) gebildet. Kz Keimzellen. Vergr. wie Abb. 22.

agametischen ungeteilten Ovariolen. Sie haben sich stark vermehrt, ohne aber weiter zu wachsen und ein Plattenepithel zu bilden. Anders im Keimzellen enthaltenden Germarium. Dieses wird von der Spitze an bis etwa über die halbe Länge in typischer Weise von einer sehr lockeren, spindelzelligen Epithelialhülle umschlossen (Abb. 26, Ep). Gegen den Grund des Germariums aber schliessen sich die Epithelialzellen zu einem immer dicker werdenden, kubischen Epithel (k.E) zusammen, wie es sonst nur um abgeschnürte Follikel zu finden ist. Die Höhe dieses Epithels beträgt in der Mitte des Germariums 12—15 Masseinheiten (s. Abb. 5) und steigt bis auf 20—24 (!) Masseinheiten am Grunde des Germariums. Hier ist, allerdings nur sehr undeutlich zu erkennen, etwas Chorion sezerniert

worden. Die spindelzellige Hülle geht ohne jede Einschnürung in das kubische Epithel über. Diese Übergangszone der schief quergeschnittenen Ovariole ist in Abb. 26 dargestellt. Die Follikelbildung ist vollständig unterblieben. Das heisst aber, *dass die Follikelabschnürung keine notwendige Voraussetzung für die Entwicklung des Follikelepithels bildet.* Warum die Ovariole ungeteilt blieb, wissen wir nicht.

Gegen die Annahme einer induktiven Auslösung der Follikelepithelbildung könnte eingewendet werden, dass das plötzliche Auftreten von Sammelfollikeln in den 24 h.n.P.-Röntgenovarien allein dadurch bedingt sein kann, dass hier im Gegensatz zu allen frühern Experimenten die Keimzellen erhalten blieben und durch ihre Gegenwart den formativen Einfluss ausüben konnten, der allein die Organisation des typischen Follikelepithels ermöglicht. Es würde sich also nicht um eine z.B. stoffliche Induktion handeln, sondern lediglich um räumliche Voraussetzungen, die bei der Entfernung der Keimzellen nicht mehr erfüllt sind. Diese räumlichen Bedingungen sind jedoch auch bei den nur partiell agametischen Ovarien, wo Keimzellen des verschiedensten Alters erhalten bleiben, durchaus vorhanden. Dennoch wurden dort höchst selten Sammelfollikel gefunden. Die Follikelbildung und die Follikelepithelentwicklung erfolgten stets im Zusammenhang mit einer einzelnen Sechzehnergruppe, wenn auch die Korrelation zwischen Keimzellentwicklung und Epithelentwicklung gelockert sein kann (S. 136). Warum aber können sich bei den 24 h.n.P.-Röntgenovarien die Epithelialzellen bis weit gegen apical völlig unabhängig von den einzelnen Keimzellgruppen und deren Entwicklungshöhe zum Follikelepithel organisieren, während dies vorher nur in Anlehnung an die Keimzellen möglich war ? Offensichtlich nur, weil sie bis dahin einen Einfluss erfahren haben, der sie dazu befähigt, während dieser Einfluss bis 17½ h.n.P. noch fehlt. Tritt die Schädigung der Keimzellen schon bei 17½ h.n.P. oder früher ein, so sind die Epithelialzellen für ihre Weiterentwicklung auf diejenigen Keimzellen (Sechzehnergruppen) angewiesen, die sich über das Behandlungsstadium hinausentwickeln. Nur dort entsteht ein Follikel, wo eine Keimzellgruppe sich noch weit genug differenzieren kann. Erfolgt die Schädigung aber erst mit 24 h.n.P., so hat ein grosser Teil der Keimzellgruppen das induzierende Stadium schon erreicht

und seinen Einfluss auf die Epithelialzellen ausüben können, bevor der Eingriff geschieht. Damit sind die Epithelialzellen für ihre weitere Differenzierung und die Organisation des Follikelepithels von der Reaktion der Keimzellen auf die Behandlung unabhängig geworden, während sie vorher auf den Anstoss jeder einzelnen, sich weiter entwickelnden Keimzellgruppe angewiesen waren. Das Resultat dieser Unabhängigkeit sind die Sammelfollikel *.

Es ist trotzdem möglich und sogar wahrscheinlich, wie später zu besprechende Abnormitäten zeigen werden (Abb. 33), dass den Keimzellen dabei auch durch ihre räumliche Gegenwart eine gewisse formative Rolle zufällt. Aber diese kann nicht als einzige Ursache für die Bildung des Follikels und seines Epithels angesehen werden. Es muss eine Induktion vorangegangen sein, die im basalen Teil des Ovars zwischen 17½ und 24 h.n.P. erfolgt.

f) *Bestrahlung im Alter von 3 Tg.n.P.*

Bestrahlungen im Alter von 3 Tg.n.P. lieferten ein ganz unerwartetes Resultat. Es wurde nämlich mit diesem Stadium zufällig eine Periode besonderer Empfindlichkeit der Eizelle gegenüber Röntgenstrahlen erfasst, die zu ihrer selektiven Auflösung im basalen und medianen Teil der Ovarien führte. Dadurch wurde die Analyse weiterer Vorgänge der Follikelentwicklung möglich.

Im Alter von 3 Tg.n.P. sind basal zwei bis drei Follikel abgetrennt. Die zwei untersten sind fertig abgekugelt und von einem bereits kubischen Epithel umschlossen (Abb. 2 g). Die Keimzellen befinden sich in der Wachstumsphase. Der Eikern steht in der Ruhephase der RT I und in den Nährzellen folgen sich die endomitotischen Teilungen (s. S. 110).

Die mit 5000 und 5500 r bestrahlten Ovarien zeigen einen recht komplizierten und bisweilen verworrenen Bau. Kombiniert man die an den verschiedenen Ovarien erhobenen Befunde, so ergibt sich für Basis und Mittelteil der 3 Tg.n.P.-Röntgenovarien folgendes Durchschnittsbild ihres Zustandes:

---

* King und Mitarb. (1956) haben unter einem grossen Material eine Ovariole mit spontan entstandenen Sammelfollikeln gefunden. Sie glauben, dass diese durch überzählige Teilungen der Oocyten I entstehen. Auf Grund der eben dargelegten Befunde kann ich mich dieser Interpretation nicht anschliessen. Die für die abnorme Ovariole angegebene Zahl von Keimzellen entspricht auch durchaus der durchschnittlichen normalen Oocytenproduktion einer Ovariole.

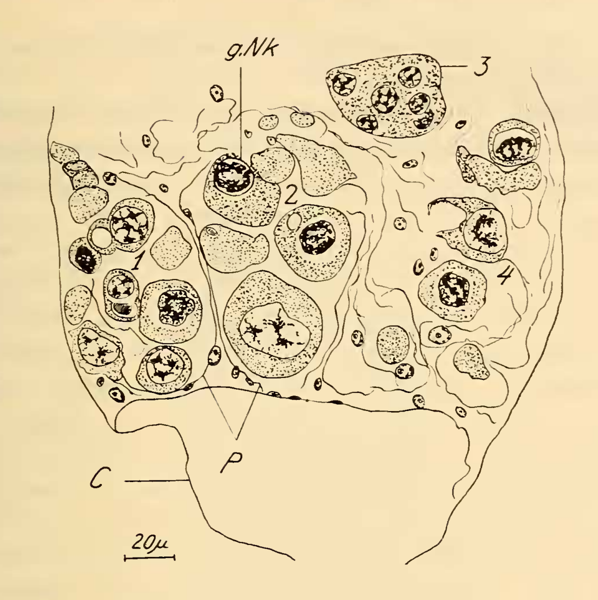


Abb. 27.

Ovarbasis eines adulten 3 Tg.n.P.-Röntgenovars. 1—4 Nährzellgruppen, 4 mit z.T. geschrumpften Nährzellkernen. C Calyx; g.Nk geschrumpfter Nährzellkern; P Peritonealhüllen. Längsschnitt.

In der Ovarbasis liegen z.T. frei, z.T. innerhalb von Peritonealhüllen Gruppen mittelgrosser bis grosser Nährzellen. Eizellen und Follikel fehlen (Abb. 27), obwohl basal im Moment der Bestrahlung Follikel mit deutlichem Epithel ausgebildet waren. Die meisten Nährzellen haben die Sekretionsphase erreicht. In ihren Kernen bildet das Chromatin ein körniges Netzwerk mit flächigen Netzpunkten, wie dies für sezernierende Nährzellen typisch ist. Dazu findet man häufig, dem Kern anliegend oder doch in seiner Nähe, grosse Vakuolen mit scholligen Sekreteinschlüssen (Abb. 28). Weil die Eizelle fehlt, welche die Sekrete aufnehmen sollte, stauen sie sich in den Nährzellen. Zum Teil sind die Nährzellkerne stark geschrumpft (Abb. 27, g.Nk). Dieses Artefakt ist möglicherweise

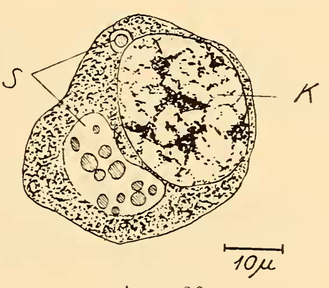


Abb. 28.

Nährzelle mit Sekretvakuolen aus einem geschädigten Ovar vom Typus der Abb. 27. K Kern; S Sekretvakuolen.

die Folge einer Quellung der Kerne, ein nach Röntgenbestrahlung bekanntes Phänomen.

Der Mittelteil der Ovarien zeigt einen weniger einheitlichen Aufbau. Es kommen hier die gleichen freien Nährzellgruppen wie in der Ovarbasis vor, nur sind die Zellen durchschnittlich etwas kleiner. Dank ihrer deutlicheren Einordnung in die Ovariolen ist hier klar zu erkennen, dass jede Nährzellgruppe für sich den Überrest eines Follikels darstellt. Eizelle und Epithel dieser Follikel aber sind verschwunden. An vielen Orten ist als letzter Rest der degenerierten Eizelle gerade noch der Pseudonucleolus des Eikernes erhalten geblieben. Ausser den bis auf die Nährzellen reduzierten Follikeln sind im Mittelteil aber auch alle Übergänge von der nackten Nährzellgruppe bis zum vollständigen Follikel mit Follikelepithel, Eizelle und Nährzellen zu finden. Dabei muss auffallen, dass mit verschwindenden Ausnahmen überall dort, wo Follikelepithelzellen vorkommen, gleichfalls eine Eizelle vorhanden ist; umgekehrt fehlt überall die Eizelle, wo auch kein Follikelepithel zu sehen ist. Tab. 4 zeigt, in welchen Kombinationen die drei

Tabelle 4.

nur Nz	Ez + Nz	Ez + Nz + Fe	Nz + Fe
sehr viele F. (± alle basalen, schätzungsweise 5—10 pro Ovar)	5 F. (alle Kerne geschrumpft Ez sehr klein)	32 F.	9 F. (entweder sehr junge F. oder Nz pyknotisch oder Fe reduziert)

Zusammenstellung der bei 10 adulten 3 Tg.n.P.-Röntgenovarien gefundenen Kombinationen der drei Zellarten des Follikels.
Ez Eizelle; F Follikel; Fe Follikelepithel; Nz Nährzellen.

verschiedenen Bestandteile eines Follikels bei 10 Ovarien gefunden wurden. Es geht daraus deutlich hervor, dass zwar die Nährzellen alleine auftreten können, dass aber als Alternative zu den solitären Nährzellgruppen nur vollständige Follikel möglich sind. Die Nachprüfung dieses Resultates bei den übrigen 3 Tg.n.P.-Röntgenovarien und bei den larval mechanisch behandelten bestätigte diesen Befund.

Die im Mittelteil noch erhaltenen Eizellen sind meist klein geblieben und entwickelten sich langsamer als die zugehörigen Nährzellen. Viele zeigen Degenerationserscheinungen. Ihre Lage im Follikel ist beliebig. Nun ist interessant, dass gleichgültig wo immer die Eizelle im Follikel liegt, basal, apical oder lateral, nur

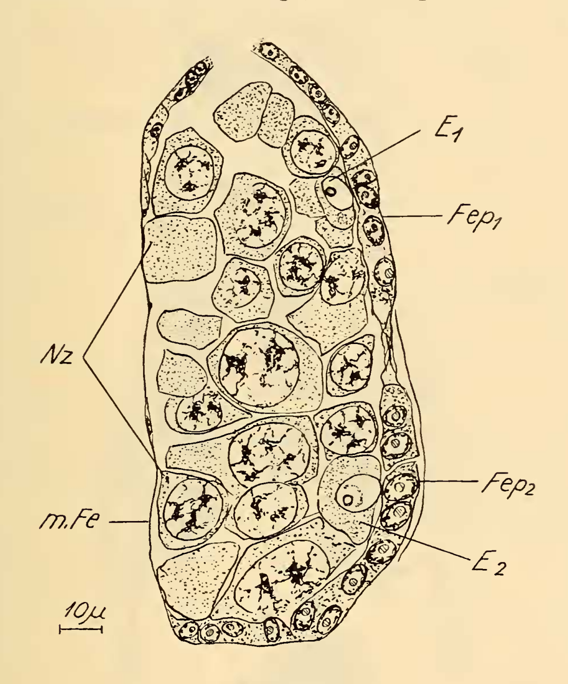


ABB. 29.

Sammelfollikel mit 2 lateralen Eizellen an Follikelepithelpolstern aus adultem 3 Tg.n.P.-Röntgenovar. $E_{1,2}$ Eizellen; $Fep_{1,2}$ Follikelepithelpolster; m.Fe membranöses Follikelepithel; Nz Nährzellen. Längsschnitt.

ihr anliegend ein kleines Stück kubischen Epithels ausgebildet ist, während sonst, soweit das Epithel Nährzellen umschliesst, nur eine dünne, flachkernige Membran vorhanden ist. Die Eizellen liegen somit auf einem kleinen Polster von Follikelepithelzellen, das am Rand kontinuierlich in die dünne Membran übergeht, wobei die der Eizelle zunächst liegenden Nährzellen meist noch auf das Polster zu liegen kommen. Handelt es sich wie in Abb. 29 um einen der hier häufigen Sammelfollikel, so entspricht die Anzahl der Epithelverdickungen stets der Zahl der eingeschlossenen Eizellen. Dies ist auch im grossen Sammelfollikel der Abb. 20 trotz des über-

wiegenden Einflusses der ältesten Keimzellgruppe auf die Epithelentwicklung noch zu erkennen.

Es bestehen also Beziehungen zwischen der Reduktion des Follikelepithels und dem Fehlen der Eizelle einerseits (s. die

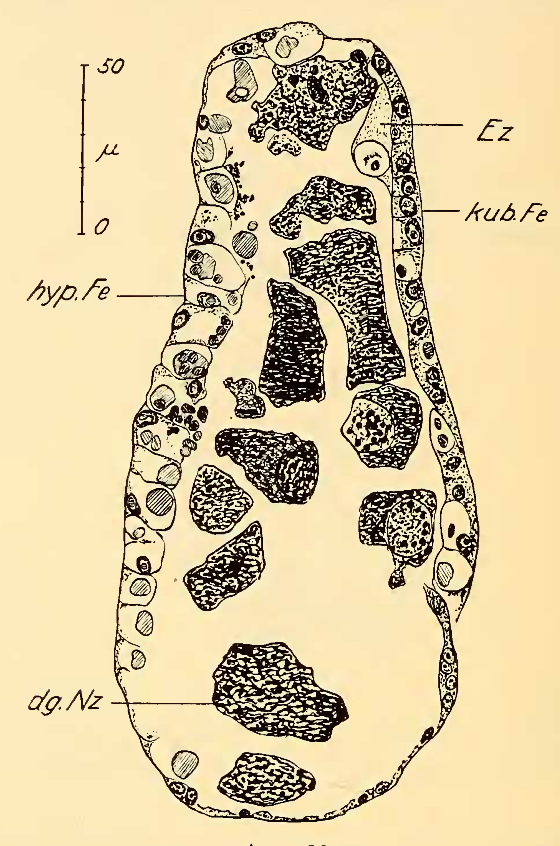


Abb. 30.

Follikel mit beginnender Hypertrophie des Follikelepithels und degenerierten Nährzellen. Die Eizelle ist in der Entwicklung zurückgeblieben, ihr anliegend ein kleines Stück normalen kubischen Follikelepithels. Ez Eizelle; dg.Nz degenerierte Nährzelle; hyp.Fe hypertrophisches Follikelepithel mit Sekretschollen (schraffiert); kub. Fe kubisches Follikelepithel; Längsschnitt.

nackten Nährzellgruppen der Ovarbasis) und zwischen Lage und Zahl der Eizellen und Lage und Zahl der kubischen Epithelabschnitte eines Follikels anderseits. Die zahlenmässige Übereinstimmung schliesst die Möglichkeit aus, dass der primäre Faktor

bei den eben beschriebenen Zusammenhängen eine Schädigung des Follikelepithels sein könnte. Sie kann es auch deshalb nicht sein, weil Röntgenbestrahlung niemals derart uniform wirkt, um die Auflösung aller Follikelepithelzellen in den Ovarbasen zu erklären. Es muss sich also hier um eine Begünstigung des Follikelepithels durch die Eizelle handeln. Es stellt sich nun die Frage, ob die Eizelle beim Erhaltenbleiben des kubischen Epithels eine aktive Rolle spielt, indem eine ständige Einwirkung von Seiten der Eizelle auf die Epithelialzellen Voraussetzung für die Entwicklung des Follikelepithels ist. Diese Möglichkeit besteht ja trotz der Ergebnisse der 24 h.n.P.-Bestrahlung immer noch. Die Entstehung von Sammelfollikeln zeigte uns nur die Unabhängigkeit der Follikelepitheldifferenzierung vom Stadium der Keimzellen, nicht aber von den Keimzellen selbst (s. S. 157). Oder liegt die Bedeutung der Eizelle nur in einer lokalen Abschirmung des Follikelepithels vor einer eventuellen reduzierenden Wirkung der Nährzellen ?

Es wurden bis dahin nur die Fälle mit Reduktion des Follikelepithels erwähnt. In vielen Follikeln wurde aber auch eine direkt gegenteilige Entwicklung des Epithels festgestellt. In Abb. 30 liegt zwar die laterale, in der Entwicklung zurückgebliebene Eizelle (Ez) ebenfalls an einem kleinen Stück kubischen Epithels (kub.Fe). Die anschliessenden Epithelzellen aber, welche die Nährzellen umgeben, sind nicht reduziert, sondern im Gegenteil hypertrophisch (hyp.Fe). Das Epithel wird hier von ausserordentlich hohen, fast vollständig vakuolisierten Zellen gebildet. Die normalerweise im äussern Drittel stehenden Kerne sind infolge der grossen Vakuolen gegen die Zellwand verlagert. Die Kerne sind gross und zeigen nicht die geringsten Spuren von Degeneration. Die Vakuolen sind mit grossen Sekretschollen und -kugeln (schraffiert) gefüllt, die z.T. aus der Zelle entlassen werden. Im Gegensatz zu diesen hypertrophierten, sezernierenden Epithelzellen sind sämtliche Nährzellen vollständig degeneriert und ihre Kerne pyknotisch verklumpt (dg. Nz). Die selbe Erscheinung ist in Abb. 31 zu finden. Um eine grosse, mit Dotterschollen gefüllte Eizelle ist hohes kubisches Epithel ausgebildet. Sobald das Follikelepithel jedoch in den Bereich der Nährzellen kommt, wird es hypertrophisch. Wiederum sind alle Nährzellen degeneriert. In diesem Follikel hatte das Epithel mit grösster Wahrscheinlichkeit vor dem

Hypertrophieren schon eine gewisse Regression erfahren, denn die Nährzellen können erst in einem sehr späten Stadium degeneriert sein. Sie müssen vor der Entartung ihre sekretorische Tätigkeit schon ausgeübt haben, da die Eizelle bis knapp $\frac{1}{3}$ Dotterhöhe angewachsen und mit Dotterschollen gefüllt ist. Schon bei $\frac{1}{4}$ Dot-

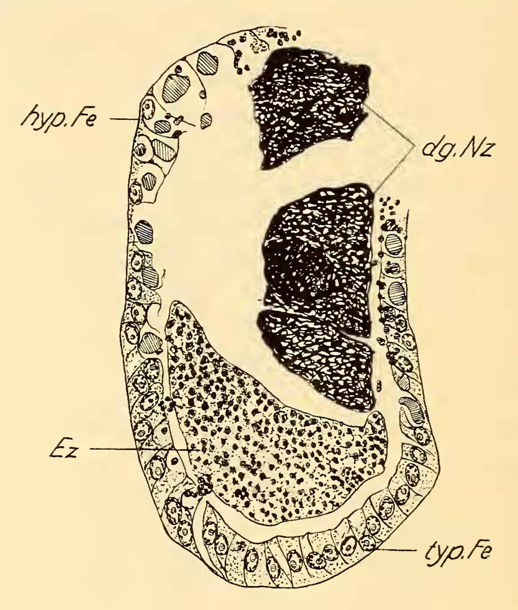


Abb. 31.

Follikel mit beginnender Hypertrophie des Follikelepithels und degenerierten Nährzellen. Eizelle von ca $\frac{1}{3}$ Dotterhöhe. Soweit die Eizelle reicht, normales, chorionsezernierendes Follikelepithel. Ez Eizelle mit Dotterschollen; dg.Nz degenerierte Nährzellen; hyp.Fe hypertrophisches Follikelepithel mit Sekretschollen (schraffiert); typ.Fe typisches Follikelepithel. Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 30.

terhöhe ist aber das Follikelepithel normalerweise um die Nährzellen merklich zurückgebildet (s. Abb. 5). In beiden Follikeln zeigen gelegentliche Sekretkugeln im normal gebliebenen Epithelstück, dass auch dort das Sekretionsstadium erreicht ist. In allen Follikeln mit hypertrophischem Epithel haben ausnahmslos alle Nährzellen pyknotische Kerne, ihr Plasma ist geschrumpft und wie die Kerne von enormer Färbbarkeit. Stets aber bleibt das der Eizelle anliegende Epithelstück normal, auch wenn die Eizelle nur klein ist; nur dass sich die Grösse des normalen Stückes nach der Grösse der Eizelle richtet.

Bei den zwei Follikeln von Abb. 30 und 31 wurde der Beginn einer Entwicklung erfasst, die zu einer vollständigen Veränderung der Follikel führt. Die Vergrösserung der Epithelzellen geht immer weiter, so dass sich das Follikellumen mehr und mehr verengert (Abb. 32). Die Riesenzellen (hyp.Fe) umschliessen die Reste der Keimzellen: zerfallene Nährzellen, Eiplasma mit Dotterschollen (E),

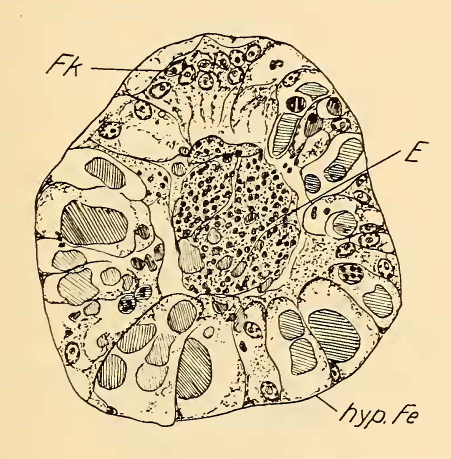


Abb. 32.

Follikel mit fortgeschrittener Hypertrophie des Follikelepithels. E Eiplasma mit Dotterschollen; Fk Follikelepithelkerne; hyp.Fe hypertrophisches Follikelepithel mit grossen Sekretschollen und wandständigen Kernen. Sekretschollen schraffiert. Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 30.

etwas seltener aber auch jüngere Oocyten I des Stadiums mit „Pachytänchromosomen“ (s. S. 110). Schliesslich verschwindet der Epithelcharakter ganz (Abb. 33). Die grossen, vakuolisierten Zellen mit ihren Sekreteinschlüssen lösen sich aus dem Epithelverband und durchsetzen den ganzen Follikel als lockeres Gewebe. Zwischen den Epithelzellen eingeschlossen liegen die Überreste der Keimzellen (Kr).

Auch hier kann nicht die Veränderung des Follikelepithels der primäre Vorgang sein, der die Degeneration der Nährzellen nach sich zieht, da sonst auch Fälle gefunden werden müssten, bei denen neben dem hypertrophischen Epithel die Degeneration der Nährzellen erst beginnt. Es ist aber vielmehr so, dass die Degeneration der Nährzellen schon sehr weit fortgeschritten ist, wenn die Hypertrophie des Follikelepithels noch in den Anfängen steht (Abb. 30).

Bei fünf Follikeln wurde um Nährzellen mit stark pyknotischen Kernen sogar normales Follikelepithel mit der relativen Dicke von 7—10 Masseinheiten gefunden. Die Hypertrophie hat hier noch nicht begonnen; aber auch die Regression ist unterblieben.

Ausser den Beziehungen zwischen der Eizelle und dem Follikelepithel (s. S. 170) sind damit auch solche zwischen den

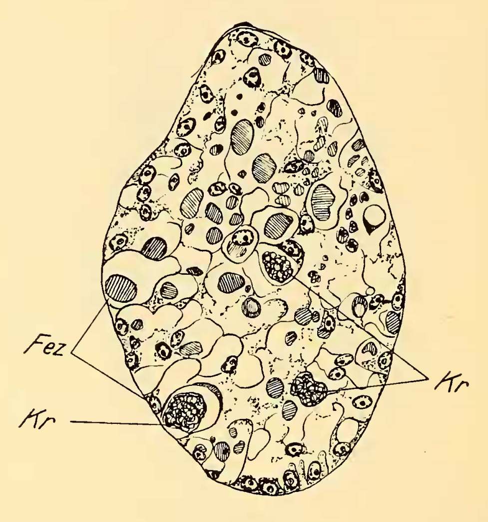


Abb. 33.

Follikel mit vollständiger hypertrophischer Entartung des Follikelepithels. Fez Follikelepithelzellen; Kr Keimzellreste. Sekretschollen schraffiert. Längsschnitt. Vergr. wie Abb. 30.

Nährzellen und dem Epithel festgestellt worden: 1. Nährzellen umschliessendes Follikelepithel wird reduziert. 2. Sind aber die Nährzellen degeneriert, so hypertrophiert das umgebende Follikelepithel und seine Zellen füllen sich mit Sekreten. Daraus folgt mit grosser Wahrscheinlichkeit, dass den Nährzellen eine reduzierende Wirkung auf das Follikelepithel zuzuschreiben ist, während die Eizelle die ihr anliegenden Partien gegen diese Wirkung lediglich abschirmt.

Vor der weitern Interpretation dieser Befunde sollen die normalen Vorgänge bei der Follikelreifung nochmals in Erinnerung gerufen werden (s. Abb. 5). Bis und mit dem dritten Follikelstadium macht sich am Follikelepithel noch keine polare Differenzierung

bemerkbar. Sobald jedoch das beschleunigte Wachstum der Eizelle und die Dottersynthese beginnen, fängt das Epithel um die Nährzellen, von der Spitze des Follikels her gegen die Mitte zu fortschreitend, zu schwinden an. Schon bei ½ Dotterhöhe (Stad. V, s. Abb. 5) ist das Epithel, soweit die Nährzellen reichen, zur dünnen Membran reduziert, während es im Bereich der Eizelle erst jetzt zur maximalen Dicke herangewachsen ist und Chorion sezerniert. Im Verlauf seiner Sekretionsphase verliert allmählich auch das Epithel um die Eizelle seine Höhe. Anfänglich mag hier einfach eine Dehnung durch die stark wachsende Eizelle vorliegen. Mitosen werden in diesem Stadium keine mehr gefunden. Später setzt deutlich eine Regression ein, die aber erst mit abgeschlossener Eibildung vollständig ist. Das beschleunigte Wachstum der Eizelle hängt mit der Tätigkeit der Nährzellen zusammen, die ihre Sekrete in die Eizelle ergiessen und mehr oder weniger vollständig von ihr aufgenommen werden. Aber auch die Nährzellen wachsen bis zu und noch während ihrer Sekretionsphase ganz beträchtlich. Die Reduktion des anliegenden Follikelepithels beginnt ziemlich genau mit der Sekretionsphase der Nährzellen. Nach den Untersuchungen von Ries (1932) an *Mallophagen* und *Pediculiden* wird dort die Nährstoffversorgung der Eizelle hauptsächlich von den Follikelepithelzellen bestritten. Das kann bei *Drosophila* höchstens zu Beginn des Wachstums der Fall sein, da die Chorionsekretion und damit der Abschluss der Eizelle vom Epithel schon bei sehr niedriger Dotterhöhe einsetzt. Die Ernährung der Eizelle dürfte hier ausschliesslich durch die Nährzellen erfolgen. Dieser Ansicht ist auch Hsu (1952). Dagegen wäre es möglich, dass die Follikelepithelzellen ihrerseits zum Wachstum der Nährzellen beitragen. Die Substanz des reduzierten Epithels muss in irgend einer Form vom benachbarten Gewebe aufgenommen werden. Sie mag gelöst in die Körperflüssigkeit übertreten. Mindestens ebenso wahrscheinlich ist aber, dass die Nährzellen auf ihre Kosten wachsen. Dann wäre verständlich, wieso das Follikelepithel in Nachbarschaft der Nährzellen so rasch erschöpft ist und zur dünnen Membran reduziert wird.

Von diesen Gegebenheiten der Normalentwicklung ausgehend, ist die Deutung der Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Experimentalbefunden leichter. Die Regression des den Nährzellen anliegenden Follikelepithels entspricht dem natürlichen Schicksal dieses Epithelbereiches. Es muss deshalb nicht erstaunen, dass

in der Ovarbasis kein Follikelepithel mehr gefunden wurde. Da die Eizellen fehlen, umschliessen die Follikelepithelien nur Nährzellen und werden demzufolge als Ganzes reduziert. Sobald auch nur eine kleine Eizelle vorhanden ist, bewahrt diese das anliegende Stück Epithel vor der Regression, da der direkte Kontakt mit den Nährzellen hier gelöst ist. Sobald die Nährzellen aber funktionsuntüchtig werden, entwickelt sich der Epithelabschnitt, welcher sie umgibt, im gleichen Sinne weiter, wie derjenige um die Eizelle. Er wächst heran und seine Zellen beginnen zu sezernieren. Da die Sekrete aber keinen Abnehmer finden, stauen sie sich in den Zellen. Dadurch wird die sekretorische Tätigkeit gehemmt; die Zellen erschöpfen sich nicht in der Sekretion, wie dies schliesslich im Epithelabschnitt um die Eizelle der Fall ist, wo nach erfolgter Chorionsekretion das Epithel vollständig reduziert ist, sondern sie bleiben erhalten und hypertrophieren. Auf diese Weise entstehen die Follikel der Abb. 30 bis 33. Dass übrigens das Follikelepithel über seinen ganzen Umfang zur Sekretion kompetent ist, beweisen der Follikel von Abb. 21, bei dem rundherum Chorion abgeschieden worden ist und die Tatsache, dass sich die Polarität des Follikelepithels nach der beliebigen Lage der Eizelle richtet (Abb. 29). Auch inverse Eier sind von typischem Chorion umgeben und in Sammelfollikeln mit mehr als einer dotterhaltigen Eizelle wird an jede Chorion angelagert. — Follikel vom Typus der Abb. 33 sind eine in allen Experimenten sehr häufige Erscheinung, während die Übergangsstadien (Abb. 30—32) eher selten zu sehen sind. Daraus ist zu schliessen, dass diese Follikel lange und ohne Veränderung bestehen bleiben. *Ohne die Gegenwart von Ei- und Nährzellen leben demnach die Follikelepithelzellen auf dem Stadium der Sekretion unverändert weiter. Nur wenn die Sekrete unter dem Einfluss der Eizelle abgegeben werden, bzw. wenn die Epithelzellen noch vor dem Sekretionsstadium von den Nährzellen aufgebraucht werden, verfallen sie der Regression.*

Eine weitere Präzisierung der Beziehungen zwischen somatischem Gewebe und Keimzellen ergibt sich aus der Beobachtung einer Fehlentwicklung, die in Ovarspitzen einiger adulter 3 Tg.n.P.-Röntgenovarien festgestellt wurde. Es handelt sich um lange Ger-

marien, die mit ihren enggedrängten, grosskernigen Epithelialzellen (Abb. 34, Epz) das Aussehen jüngerer agametischer Ovariolen (Abb. 13, S. 124) haben. Die Vermehrung der Epithelialzellen, welche bei den agametischen Ovariolen als einzige Äusserung der sonst unterbleibenden Follikelbildung anzusehen ist (s. S. 126 ff),

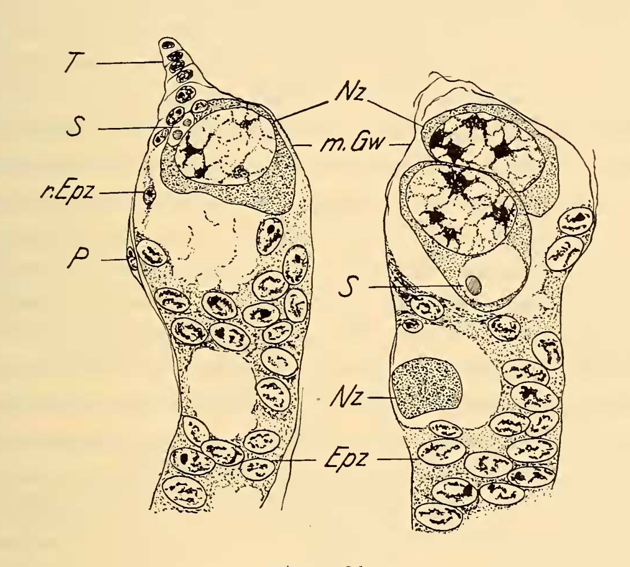


Abb. 34.
Ungeteiltes Ende einer Ovariole mit solitären Nährzellen aus einem adulten 3 Tg.n.P.-Röntgenovar. Zwei Nachbarschnitte. Epz Epithelialzellen; m.Gw membranöse Germariumwand; Nz Nährzellen; P Peritonealhülle; r.Epz reduzierte Epithelialzelle; S Sekretvakuole; T Terminalfilament. Längsschnitte. Vergr. wie Abb. 22.

hat noch nicht stattgefunden. Die Germarien sind jedoch nicht agametisch. Zwar fehlen alle jüngern Keimzellstadien, die in diesem Ovarbezirk erwartungsgemäss die normalen Nachbarovariolen füllen. Dagegen weisen sie eine wechselnde Zahl solitärer Nährzellen der Sekretionsphase auf. Im abgebildeten Germarium (Abb. 34) liegen z.B. drei grosse Nährzellen (Nz) unmittelbar unter dem Terminalfilament (T); in einer Lage, die normalerweise nie von Nährzellen eingenommen wird. Sie enthalten Vakuolen mit Sekretschollen (S). Die Wand der Germarien wird in Nachbarschaft der Nährzellen nicht von den grosskernigen Epithelialzellen (Epz), sondern nur von einer dünnen Membran (m.Gw) gebildet. Verein-

zelt liegen in der Übergangszone von den Epithelialzellen zur membranösen Wand Zellen mit Regressionserscheinungen (r.Epz). Neben ihrer sekretorischen Tätigkeit müssen die Nährzellen also auf die Epithelialzellen auch ihren reduzierenden Einfluss ausgeübt haben, der im Normalfall erst die Follikelepithelzellen trifft (s. S. 176). Die Germarien enthalten somit funktionstüchtige Oocyten I in fortgeschrittenem Entwicklungsstadium. Dennoch sind keine Anzeichen einer Follikelbildung zu finden. Da es sich um die Enden der Ovariolen handelt, muss die Möglichkeit bedacht werden, dass die Epithelialzellen hier einfach die Kompetenz zur Follikelbildung noch nicht erreicht haben könnten. Das Fehlen der Zellvermehrung (s. oben) würde damit in Einklang stehen. Die Nachbarovariolen, welche die normale Folge von Keimzellstadien einschliessen, sind aber auf der gleichen Ovarhöhe in viele Follikel unterteilt und enden in einem nur sehr kurzen Germarium. Auch eine Blockierung der Epithelialzellen durch die Röntgenbestrahlung ist wenig wahrscheinlich. Auf eine derart grosse Zahl von Zellen könnte die Strahlenwirkung niemals so gleichförmig sein, dass nicht wenigstens ein Teil der Zellen sich weiter entwickeln würde. Zudem sind auch keine histologischen Anzeichen einer Schädigung zu sehen. Die abnorme Lage der Nährzellen unterhalb des Terminalfilamentes lässt vermuten, dass die Nährzellen erst im Lauf der Entwicklung auf irgend eine Weise in die Spitze der Ovariole gelangt sind. Geschah eventuell die Einwanderung erst in einem Zeitpunkt, da ihre Induktionsfähigkeit schon erloschen war? Diese Möglichkeit ist für das abgebildete Germarium nicht auszuschliessen, obwohl die vollständige Reduktion der benachbarten Epithelialzellen erkennen lässt, dass die Nährzellen schon längere Zeit diesen Platz einnehmen müssen. In andern Germarien aber sind die Nährzellen über die ganze Länge verteilt. Hier kann mindestens für diejenigen Nährzellen, die über dem letzten der abgeschnürten Follikel liegen, kaum angenommen werden, dass sie sich nicht mehr am Ort ihrer Entstehung befinden. Es müssten wenigstens in diesen Fällen Ansätze zur Follikelabschnürung vorhanden sein. Als einzig mögliche Ursache für den Ausfall der Follikelbildung kommt damit nur noch das Fehlen jeglicher Eizelle in Betracht. Dies bedeutet aber, dass von den Oocyten I nur die Eizelle allein die Fähigkeit der Follikelinduktion besitzt. Zwischen der Wirkung der Eizelle

und der Wirkung der Nährzellen auf die Epithelialzellen besteht somit ein klarer Antagonismus. Die Eizelle induziert die Weiterentwicklung der Epithelialzellen zum hochschichtigen, sezernierenden Follikelepithel; die Nährzellen aber hemmen diese Entwicklung und bewirken die vollständige Regression der Epithelzellen.

Auch die Frage, ob die Entwicklung des Follikelepithels bis zur Sekretionsphase nur unter dem ständigen Einfluss der Eizelle möglich ist, kann jetzt beantwortet werden. Aus allen Befunden geht hervor, dass der Aktionsbereich der Keimzellen räumlich äusserst beschränkt ist. Er erstreckt sich nicht über das unmittelbar benachbarte Gewebe hinaus. Jede Keimzellgruppe induziert nur gerade ihren eigenen Follikel, so dass z.B. zwischen zwei Follikeln ein Stück ungeteilten Ovariolenschlauches liegen kann. In den Follikeln mit kleingebliebener Eizelle neben grossen Nährzellen wird nur gerade jenes kurze Epithelstück von der vorzeitigen Regression bewahrt, das der Eizelle anliegt. Im normalen Follikel kann sich ebenfalls nur der Epithelteil entwickeln, welcher die Eizelle unmittelbar umgibt. Umgekehrt differenziert sich in den Follikeln mit degenerierten Nährzellen das Epithel über den ganzen Umfang zur Sekretionsphase weiter, selbst wenn nur eine ganz kleine Eizelle vorhanden ist (Abb. 30), die wiederum nur gerade das anliegende Epithelstück vom Hypertrophieren abhält. Dass die Möglichkeit hiezu auch in diesem Abschnitt bestehen würde, da auch hier sezerniert wird, zeigen die vereinzelten Sekretschollen in den Zellen dieses Stückes. Es ist nicht möglich, dass in solchen Follikeln die von der Eizelle z.T. sehr weit entfernten und durch die Nährzellen von ihr getrennten Epithelzellen nur dank einem Dauereinfluss der Eizelle die Sekretionsphase erreicht haben. Beim geringen Wirkungsbereich der Eizelle wüsste man nicht, wie ein solcher, über das Hindernis der dazwischenliegenden Nährzellen hinweg, die weit entfernten Epithelzellen hätte erreichen können. *Auch die Induktion der Follikelepithelentwicklung kann deshalb nur ein befristeter Vorgang sein*, der nach den S. 151 ff dargestellten Ergebnissen basal in der Zeit zwischen 17½ und 24 h.n.P. erfolgt, d.h. mindestens 24 h vor dem Beginn jeder Follikelepithelentwicklung (s. Abb. 2).

Zum Abschluss muss man sich noch überlegen, ob die Induktionsphase der Follikelbildung allein durch die Tätigkeit der Keimzellen bestimmt wird, oder ob dieser Aktivitätsphase eine Kompetenzphase oder sensible Periode der Epithelialzellen gegenüber steht. Unsere Versuchsanordnung gestattet eine Entscheidung darüber nicht. Zur Lösung dieser Frage müsste man Transplantationsexperimente anstellen können, wie sie bei entwicklungsphysiologischen Untersuchungen an *Amphibien* verwirklicht wurden, d.h. man sollte bei *Drosophila* verschieden alterige Keimzellen mit verschieden alterigen Epithelialzellen kombinieren können. Es ist jedoch eine Aussage über den Beginn einer eventuellen sensiblen Periode möglich. Induzierend wirkt allein die Eizelle, und zwar mehr oder weniger unmittelbar von ihrer Entstehung an. Besteht eine sensible Phase der Epithelialzellen, so muss ihr Beginn spätestens mit dem Beginn der Aktivitätsphase der Keimzellen zusammenfallen. Basal muss sie demnach spätestens um die 9.h.n.P. begonnen haben.

E. SCHLUSSÜBERSICHT

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung lässt sich folgendes Bild der Beziehungen zwischen den Keimzellen und dem somatischen Ovargewebe ableiten:

In einer *ersten Entwicklungsphase*, welche die gesamte Embryonal- und Larvalzeit umfasst und innerhalb der Praepupalzeit bis zum Moment der Entstehung der Oocyten I, d.h. bis 9 Stunden nach der Pupariumbildung reicht, verläuft die Entwicklung von Keimzellen und somatischen Zellen des Ovars rein mosaikartig. In dieser ersten Phase differenzieren die Epithelialzellen autonom (in Bezug auf die Keimzellen) Ovariolen mit Basisstiel, Germarium und Terminalfilament. Die Keimzellen durchlaufen unterdessen mehrere, der einfachen Zellvermehrung dienende oogonialen Teilungen, sowie, an der Basis der Ovariolen, die ersten oocytogenetischen Umwandlungsteilungen, aus denen Sechzehnergruppen von Oocyten I hervorgehen. Das Erscheinen der Oocyten I 9 h.n.P. bedeutet das Ende der ersten, mosaikartigen Entwicklungsphase.

Kurz nach der Entstehung der Oocyten I beginnt als *zweiter Entwicklungsabschnitt* die Phase der Follikelinduktion

durch die Eizelle. Trotz des ontogenetisch späten Eintrittes dieser Induktion dürfte die Eizelle als Glied der Keimbahn dabei primärer Induktor sein. Auf das ganze Ovar bezogen dauert die Induktionsphase solange als Eizellen frisch entstehen. Das bedeutet von 9 h.n.P. bis zur Erschöpfung des Ovars am Ende der Legeperiode der Imago. Betrachtet man jedoch allein diejenigen somatischen Zellen, die gerade die dreifache Induktionswirkung der Eizelle: Wachstumsimpuls, Anstoss zur Follikelabtrennung, Anstoss zur Follikelepitheldifferenzierung (basal zwischen 9 und 12 h, bzw. zwischen 12 und 17½ h, bzw. zwischen 17½ und 24 h.n.P.) erfahren haben, kann eine weitere (dritte) Entwicklungsperiode unterschieden werden, die basal spätestens 24 h.n.P. beginnt.

Die drei Induktionsvorgänge befähigen die Epithelialzellen zur selbständigen Differenzierung bis zum hochschichtigen, das Chorion sezernierenden Follikelepithel. Der *dritte Entwicklungsabschnitt* ist dementsprechend erneut eine Periode der unabhängigen, mosaikartigen Entwicklung. Sie dauert basal von ca 24 h.n.P. an über die ganze restliche Puppenzeit hinweg bis zur Reife der ersten Eier während des 2. Imaginaltages. Für einen Teil der Follikelepithelzellen, nämlich für alle jene, welche den Nährzellen anliegen, wird sie jedoch gegen Ende durch eine letzte, *vierte Entwicklungsphase* überlagert, in welcher wiederum von Seiten der Keimzellen, und zwar diesmal von den Nährzellen, Einfluss auf die Entwicklung der somatischen Zellen genommen wird. Basal fällt diese abhängige Phase mit dem 1. Imaginaltag zusammen. Die Nährzellen wirken dabei als Antagonisten zur Eizelle, denn ihr Eingreifen bewirkt die vollständige Regression der Follikelepithelzellen bevor sie das Sekretionsstadium erreicht haben. Dieser Prozess ist dabei ganz anders geartet als die Auslösung der Follikelentwicklung durch die Eizelle. Der Effekt jener zeitlich kurz begrenzten Induktionsvorgänge setzt erst 24 und mehr Stunden später und unabhängig vom Zustand der Eizelle ein, während die Wirkung der Nährzellen an ihre ständige und unmittelbare Anwesenheit und Funktionstüchtigkeit gebunden ist.

F. ERGEBNISSE

I. Normalentwicklung.

1. Der zeitliche Ablauf der Differenzierung der Ovariolen im Ovar von *Drosophila mel.* Meig wird dargestellt (s. Abb. 2, S. 99).

2. Der zeitliche Ablauf der oocytogenetischen Teilungen im basalen, mittelständigen und apicalen Bereich des Ovars wird anhand von Quetsch- und Schnittpräparaten untersucht (Tab. 1, S. 103). Die ersten Oocyten I. Ordnung entstehen 9 Std. nach der Pupariumbildung.

3. Die gemeinsame Dauer von Metaphase und Anaphase der oocytogenetischen Teilungen beträgt etwa 4,5 bis 7,6 Minuten.

4. Zwischen den 4 oocytogenetischen Teilungen erfolgt nahezu kein Wachstum der Keimzellen (Kernmessungen, s. S. 108).

5. Verschiedene, für die Untersuchung wichtige Stadien werden charakterisiert (Abb. 5, S. 111).

6. Auf Grund von Messungen wird eine numerische Korrelation zwischen Follikelepitheldicke und Eikerngrösse festgestellt. Jedem Follikelstadium kann eine bestimmte Grössenklasse des Eikerns und ein bestimmter Dickenbereich des Follikelepithels zugeordnet werden.

II. Versuchsergebnisse.

7. Gegenüber mechanischer Verletzung, UV- und Röntgenbestrahlung weisen die Keimzellen eine höhere Empfindlichkeit auf als der somatische Teil des Ovars.

8. Die Reaktion auf die unter 7. genannten Insulte kann über 4 Keimzellgenerationen verzögert erfolgen. Die Entstehung dieser Spätwirkung wird diskutiert (s. S. 139 ff).

9. Totale oder partielle Agametie ohne nennenswerte Somaschädigung bei der nachfolgenden imaginalen Ausdifferenzierung wurde bei Ovarien verpuppungsreifer Larven durch mechanische Zerstörung, UV- und Röntgenbestrahlung erreicht; bei Ovarien im Alter von 7, 12, 17½, 24 und 72 Stunden nach der Pupariumbildung durch Röntgenbestrahlung.

10. Bei der Entfernung der Keimzellen unmittelbar vor oder 7—8 h.n.P. entstehen in den dadurch s e c u n d ä r agametisch gewordenen Ovarien die gleichen ungeteilten Ovariolenschläuche wie in den p r i m ä r agametischen Ovarien aus den Experimenten GEIGY's (1931). Sie werden — wenn fertig entwickelt — von zahlreichen enggedrängten, spindelförmigen (Germarium) und polyedrischen („Follikelzone") Epithelialzellen gebildet.

11. Sowohl bei den primär wie bei den secundär agametischen Ovariolen fallen einzig die Follikelabschnürung und die Umbildung der Epithelialzellen zum kubischen Follikelepithel weg. Die übrige imaginale Differenzierung der Ovariole ist nicht gestört. Die Vermehrung der Epithelialzellen, welche im Normalfall die Follikelbildung begleitet, findet statt; ebenso die imaginale Differenzierung von Terminalfilament und Basalstiel.

12. Fehlen der Keimzellen ab 12 h.n.P. führt zur Bildung viel grösserer und meist keulenförmiger ungeteilter Ovariolen mit locker stehenden, grossen Epithelialzellen.

13. Fehlen der Keimzellen ab 17½ h.n.P. bewirkt die Entstehung agametischer F o l l i k e l ohne eigentliche Epithelbildung.

14. Blockierung der Keimzellen ab 24 h.n.P. führt zur Bildung von Sammelfollikeln infolge genereller, keimzellunabhängiger Entwicklung der Follikelepithelien.

15. Die Follikelbildung wird durch einen befristeten Induktionsvorgang ausgelöst.

16. Induktor ist die junge Eizelle kurz nach ihrer Entstehung. Jede Eizelle induziert nur „ihren" Follikel.

17. In der basalen Ovarhälfte erfolgt die Follikelinduktion zwischen 9 und 24 h.n.P., das heisst mindestens 24 h vor der Bildung der ersten Follikel.

18. Die Induktion erfolgt in 3 Stufen: Zwischen 9 und 12 h.n.P. erfolgt (basal) ein Wachstumsimpuls; zwischen 12 und 17½ h.n.P. wird die Abschnürung der (basalen) Follikel induziert und zwischen 17½ und 24 h.n.P. erfolgt die Induktion des Zusammenschlusses der Epithelialzellen zum kubischen Follikelepithel und dessen Entwicklung zum Chorion sezernierenden Organ.

19. Die Entwicklung des Follikelepithels kann auch ohne vorangehende Follikelabschnürung erfolgen.

20. Die Nährzellen der Sekretionsphase bewirken die Reduktion der ihnen benachbarten Follikelepithelzellen. Im Gegensatz zu der Wirkung der Eizellen ist der reduzierende Einfluss der Nährzellen auf die Dauer ihrer Anwesenheit und ihrer Funktionsfähigkeit beschränkt.

21. Ausfall der Nährzellen führt zur Hypertrophie der Follikelepithelzellen.

22. Die Eizelle schirmt die ihr anliegenden Follikelepithelzellen gegen den Einfluss der Nährzellen ab.

23. Das Follikelepithel besitzt über seinen ganzen Umfang die Kompetenz zur Chorionsekretion.

24. Die polar verschiedene Ausbildung des Follikelepithels ist die Folge der antagonistischen Wirkung von Eizelle und Nährzellen. Die Polarität ist einzig von der Lage der Keimzellen abhängig.

25. In Sammelfollikeln mit mehreren dotterbildenden Eizellen wird bei jeder Eizelle ein Chorion abgeschieden.

26. Die Reduktion des Basis- und des Zwischengewebes (Ovarstroma) wird durch die Entwicklung der Ovariolen und ihrer Follikel bedingt.

27. Das *Drosophila*-Ovar gehört zu jenen Entwicklungssystemen, bei denen sich die beiden gegensätzlichen Entwicklungsprinzipien „abhängige" und „unabhängige Differenzierung" ablösen und durchdringen.

G. LITERATUR

ABOIM, A. N. 1945. *Développement embryonnaire et post-embryonnaire des gonades normales et agamétiques de Drosophila melanogaster.* Rev. suisse Zool., 52.

AUERBACH, C. and MOSER, H. 1953. *An Analysis of the mutagenic action of Formaldehyd-Food I und II.* Z. ind. Abst. u. Vererbgsl., 85.

BODENSTEIN, D. 1947. *Investigations on the reproductive system of Drosophila.* J. exp. Zool., 104.

— 1950. *The postembryonic Development of Drosophila.* In Demerec, Biology of Drosophila, New York, Wiley a. Sons.

Bonnier, G., Lüning, K. G. and Barbro, A. 1952. *On a possible mutagenic effect of x-rayed egg cytoplasm.* Hereditas, 38.

Bucher, N. 1951. *Zur Entwicklung röntgenbestrahlter Ovarien von Drosophila melanogaster.* Arch. Jul. Klaus-Stiftg., 26.

Carlson, J. G. 1950. *Effects of Radiation on Mitosis.* J. cell. comp. Physiol., 35, Suppl. 1.

Ephrussi, B. u. Hottinger, H. 1951. *Cytoplasmic constituents of Heredity on an unstable cell state in yeast.* Cold Spring Harbor Symp. quant. biol., 16.

Friedrich-Freksa, H. und Kaudewitz, F. 1951. *Versuche mit radioaktivem P an Amoeba proteus.* Verhandl. Deutsch. Zool. Ges. Wilhelmshaven.

— 1953. *Letale Spätfolgen nach Einbau von ^{32}P in Amoeba prot. und ihre Deutung durch genetische Einheiten.* Z. Natforsch. Tübingen, 86.

Geigy, R. 1931. *Action de l'ultra-violet sur le pôle germinal dans l'œuf de Drosophila melanogaster.* Rev. suisse Zool., 38.

Geigy, R. und Aboim, A. N. 1944. *Gonadenentwicklung bei Drosophila nach frühembryonaler Ausschaltung der Geschlechtszellen.* Rev. suisse Zool. 51.

Gloor, H. 1943. *Entwicklungsphysiologische Untersuchung an den Gonaden einer Letalrasse (lgl) von Drosophila melanogaster.* Rev. suisse Zool., 50.

Gray, L. H. 1951. *Biological actions of ionizing radiations.* In Butler, T. A. V. and Randall, I. T. *Progr. in Biophysico and biophysical chemistry*, 2. London, Pergamon Press.

Guyénot et Naville. 1929. *Les chromosomes et la réduction chromatique chez Drosophila melanogaster.* Cellule, 39.

— 1933. *Les premières phases de l'ovogénèse de Drosophila melanogaster.* Cellule, 42.

Hadorn, E. 1946. *Mutationsversuche mit Chemikalien an Drosophila. I. Wirkung von Colchicin auf transplantierte Larven-Ovarien nach Behandlung in vitro.* Rev. suisse Zool., 53.

— 1948. *Genetische und entwicklungsphysiologische Probleme der Insektenontogenese.* Folia biotheoret., 3.

Hadorn, E. und Bertani, G. 1948. *Induktion männlicher Pigmentierung in somatischen Zellen von Drosophila-Ovarien.* Rev. suisse Zool., 55.

Hadorn, E. und Fritz, W. 1950. *Veränderungen am transplantierten weiblichen Geschlechtsapparat von Drosophila mel. nach Behandlung der Imaginalscheiben in Salzlösungen.* Rev. suisse Zool., 57.

Hsu, S. W. 1952. *The History of the Cytoplasmic Elements during Vitellogenesis in Dros. mel.* Quart. J. Microsc. Sc., 93.

Huettner, A. 1924. *Maturation and Fertilization in Drosophila melanogaster.* J. Morph. a. Phys., 39.

HUETTNER, A. 1940. *Differentiation of the gonads in the embryo of Drosophila melanogaster.* Genetics 25.

KERKIS, J. 1933. *Development of gonads in Hybrids between Drosophila melanogaster and simulans.* J. exp. Zool., 66.

KING, R. C., RUBINSON and SMITH. 1956. *Oogenesis in adult Drosophila mel.* Growth, 20.

PAINTER, T. S. and REINDORP, E. 1939. *Endomitosis in the nurse cells of the ovary of Drosophila mel.* Chromosoma, 1.

POULSON, D. F. 1937. *The embryonic development of Drosophila mel.* Actualités scient. et industrielles, 498.

— 1950. *Histogenesis, Organogenesis and Differenziation in the Embryo of Drosophila mel.* In DEMEREC, *Biology of Drosophila*, New York, Wiley a. Sons.

RABINOWITZ, M. 1941. *Cytology and Embryology of Drosophila egg.* J. Morph., 69.

RIES, E. 1932. *Die Prozesse der Eibildung und des Eiwachstums bei Pediculiden und Mallophagen.* Z. Zellforschg. u. mikr. Anat., 16.

RUGH, R. 1954. *The effect of ionizing radiations on amphibian development.* J. cellular a. comp. physiol., 43, Suppl. 1.

SCHLIEP, A. 1923. Arch. Zellforschg., 17.

SCHRADER, F. 1953. *Mitosis.* Columbia Univ. Press, New York.

STONE, WYSS and HAAS. 1947. *The production of Mutations in Staphylococcus aureus by Irradiation of the substrate.* Proc. Nation. Acad. Scienc., 33.

VOGT, M. 1940*a*. *Zur Ursache der unterschiedlichen gonadotropen Wirkung der Ringdrüse von Drosophila funebris und melanogaster.* Roux' Archiv, 140.

— 1940*b*. *Die Förderung der Eireifung innerhalb heteroplastisch transplantierter Ovarien von Drosophila durch die gleichzeitige Implantation der arteigenen Ringdrüse.* Biol. Zentr. bl., 60.

— 1941*a*. *Zur Artspezifität der Ringdrüsenwirkung auf die Dotterbildung und die imaginale Differenzierung bei Drosophilaarten.* Biol. Zentr. bl., 61.

— 1941*b*. *Anatomie der pupalen Drosophila-Ringdrüse und ihre mutmassliche Bedeutung als imaginales Metamorphosezentrum.* Biol. Zentr. bl., 61.

— 1942. *Induktion von Metamorphoseprozessen durch implantierte Ringdrüsen bei Drosophila.* Roux' Archiv, 142.